TABLE DES VOLUMES
ET LISTE DES COLLABORATEURS

Les volumes publiés sont indiqués par un *

PHYSIOLOGIE

PATHOLOGIE VEGETALE

ENCYCLOPÉDIE SCIENTIFIQUE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION

du Dr **TOULOUSE**, Directeur de Laboratoire à l'École des Hautes-Études

Secrétaire général **H. PIÉRON**

BIBLIOTHÈQUE DE PHYSIOLOGIE & DE PATHOLOGIE VÉGÉTALES

Directeur **L. MANGIN**

Membre de l'Institut
Directeur du Muséum d'Histoire naturelle

NUTRITION DE LA PLANTE

III

NUTRITION DE LA PLANTE

UTILISATION DES SUBSTANCES TERNAIRES

PAR

arin LLIA

DOYEN DE LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ
DE PARIS

Avec 55 figures dans le texte

PARIS
LIBRAIRIE OCTAVE DOIN
GASTON DOIN, EDITEUR
8, PLACE DE L'ODÉON, 8

1923

2362

NUTRITION DE LA PLANTE

UTILISATION DES SUBSTANCES TERNAIRES

INTRODUCTION

Nous avons envisagé dans un volume précédent de cette Collection l'état général de nos connaissances relatives à la manière dont les substances organiques ternaires, c'est-à-dire celles qui sont dépourvues d'azote, se constituent dans le corps des végétaux, nous avons vu qu'à cet égard les plantes se classent en deux groupes physiologiques très distincts, le premier comprend les végétaux capables de fabriquer des matières ternaires à partir du gaz carbonique de l'air, nous avons qualifié ces êtres d'*autotrophes* et nous avons vu qu'ils correspondent presque exactement aux plantes présentant le pigment vert connu sous le nom de chlorophylle, il s'agit ici d un phénomène de photosynthèse réalisé par l'utilisation de l'énergie des radiations solaires

Un second groupe s'oppose au précédent en ce qu'il comprend des végétaux dits *hétérotrophes* qui constituent leur matière organique, comme il arrive pour les animaux, aux dépens de substances elles-mêmes organiques, provenant plus ou moins directement d'autres êtres vivants

Mais, s'il y a une dualité dans l'origine des matières ternaires, il y a au contraire une remarquable unité dans la manière dont celles-ci sont utilisées par la plante, une partie est employée à construire de nouvelles cellules et à réaliser des réactions qui fournissent de l'énergie, une autre peut être mise en réserve pour une utilisation ultérieure, l'objet de ce volume est précisément l'étude des transformations que subissent les substances ternaires, qu'elles aient ou non passé par l'état de réserve, il s'agit essentiellement des phénomènes généraux exothermiques de la *respiration* et des *fermentations*

Mais, dans le cas où les matières ternaires se sont accumulées à l'état de réserve, c'est-à-dire sous une forme relativement complexe, il ne peut y avoir utilisation de ces substances qu'après qu'elles ont subi une simplification correspondant au phénomène de *digestion* ; c'est cette transformation que nous envisagerons tout d'abord et nous verrons qu'elle présente une grande unité, soit qu'il s'agisse de substances accumulées dans le corps de la plante verte ou sans chlorophylle, soit qu'il s'agisse de matériaux complexes mis extérieurement à la disposition d'un végétal hétérotrophe

L'ensemble de la digestion des substances organiques et de leur utilisation constitue le catabolisme de la plante, l'anabolisme désignant au contraire les phénomènes qui président à leur formation et à leur polymérisation et que nous avons étudiés dans le volume précédent.

PREMIÈRE PARTIE

DIGESTION DES RÉSERVES TERNAIRES

CHAPITRE PREMIER

MISE EN EVIDENCE DE LA DIGESTION ET DE LA MIGRATION DES RESERVES TERNAIRES

1 Tubercule de Betterave

Nous avons étudié particulièrement, comme exemple de réserve, celle qui se constitue dans le tubercule de Betterave pendant la première année de végétation de cette plante bisannuelle, la racine renflée de ce végétal accumule du saccharose et nous avons reconnu que ce sucre provient des produits de l'assimilation chlorophyllienne, les matières sucrées contenues dans le limbe foliaire sont constituées par un mélange de saccharose et de réducteur (glucose et lévulose), on voit la proportion de réducteur augmenter progressivement dans le pétiole au fur et à mesure qu'on se rapproche du collet et brusquement, au niveau du collet, il s'effectue une polymérisation aboutissant à la formation de saccharose Il n'existe en fait dans les tissus du tubercule de Betterave qu'une très faible proportion de réducteur, ne représentant que 2 à 17 p 100 de saccharose (H Colin)

A la fin de la première année, les feuilles radicales peuvent disparaître par le froid, puis, au printemps suivant, il se développe une tige portant de nouvelles feuilles et donnant ensuite naissance à des fleurs et des fruits.

Si on analyse le tubercule porte-graines au cours de cette seconde année, on constate que sa teneur en sucre diminue progressivement en même temps que la proportion de matière sèche augmente; le plus souvent, lorsque les fruits sont constitués, le tubercule au début très parenchymateux se flétrit et devient fibreux; c'est ainsi que des Betteraves, conservées pendant l'hiver, plantées au mois de mai, et qui contenaient 17,3 de sucre pour 100 de substance sèche n'en renfermaient plus que 5,3 p. 100 au moment de la floraison (22 juillet) et 2 p. 100 lors de la récolte des graines (5 septembre).

La première idée qui vient à l'esprit pour expliquer ces faits est qu'il s'effectue une migration du sucre à partir du tubercule vers les nouveaux organes aériens. L'analyse des sucres contenus dans la tige montre que la quantité totale de ces substances va en diminuant du collet à la région terminale, celle qui porte les inflorescences, et d'autre part le rapport du saccharose au sucre réducteur (S/R) va en diminuant de bas en haut, ainsi qu'en témoignent les chiffres suivants qui se rapportent à 100 de substance fraîche d'une plante en fleurs.

	Sucre total	Saccharose	Réducteur	S/R
	—	—	—	—
Collet	4,5	4,24	0,26	16,30
Bas de la tige	2,45	1,71	0,74	3,16
Milieu de la tige	1,[illegible]	0,63	0,58	1,08
Inflorescences	1,40	0,23	1,17	0,19

Tout se passe donc bien comme si le saccharose était transporté de la souche vers les organes aériens et subissait une transformation d'abord rapide, puis plus lente, au fur et à mesure de son ascension. Mais la démonstration de cette hypothèse n'est pas donnée d'une manière certaine par les analyses que nous venons de rapporter ; en fait certains auteurs ont pu prétendre qu'il n'y avait aucune migration du saccharose à partir du tubercule de Betterave, les sucres qu'on observe dans la tige pourraient provenir entièrement de l'assimilation effectuée par les feuilles qu'elle porte, et l'augmentation du rapport S/R à partir de ces feuilles vers la tige pourrait aussi bien s'expliquer par la polymérisation des sucres réducteurs constitués par le phénomène chlorophyllien ; il se passerait alors quelque chose d'analogue à ce que nous avons vu se produire pendant la première année, avec cette différence cependant que la polymérisation en saccharose commencerait avant l'arrivée des sucres au collet. Quant à la diminution du sucre à l'intérieur du tubercule, elle pourrait se rapporter à un tout autre phénomène qu'une migration et être dû par exemple au phénomène respiratoire.

Il est donc nécessaire, pour que nous puissions parler d'une participation des réserves sucrées du tubercule à l'édification des organes aériens, de s'appuyer sur d'autres faits qui ne laissent place à aucun doute. H. Colin les a fournis par l'étude de ce qui se passe quand une Betterave est mise à se développer à l'obscurité, circonstance qui supprime la cause d'erreur que présentaient les observations précédentes, à savoir l'assimilation chlorophyllienne des nouvelles feuilles.

Une Betterave débarrassée de ses feuilles et abandonnée à l'obscurité forme encore des organes foliaires, mais ceux-ci restent jaunes, leur pétiole est très allongé et leur limbe très réduit, il peut également se former des tiges atteignant jusqu'à 50 cm de haut. Cette fois, les sucres que contiennent les organes étiolés nouvellement formés ne peuvent provenir que du sucre du tubercule qui présente une nutrition exclusivement hétérotrophe et nous avons par là la certitude que le saccharose émigre vers les organes aériens.

Des Betteraves de 40 grammes ont donné à H. Colin les résultats suivants (rapportés à 100 de substance fraîche) en ce qui concerne les proportions de sucre des différents organes, après un séjour d'un mois à l'obscurité.

	Sucre total	Saccharose	Réducteur	S/R
Souche	4,95	4,75	0,20	23,70
Collet	2,51	2,30	0,21	11
Pétioles	2,13	0,22	1,91	0,11
Limbes	1,53	0,09	1,44	0,062

La teneur relative de la souche en sucres réducteurs reste, on le voit, très faible et les conditions dans lesquelles ont été placés les tubercules n'entraînent pas une modification du saccharose, c'est donc bien à l'état de saccharose que le sucre sort du tubercule. Mais il subit rapidement une transformation en sucre réducteur, qui va en s'accentuant du collet aux feuilles, c'est exactement le contraire que nous avons vu se passer dans les conditions normales, lors de la première année de végétation.

Les réservées sucrées emmagasinées par la Betterave dans le tubercule pendant la première année de végétation doivent donc bien être considérées comme uti-

lisées lors de la seconde année par les nouveaux organes aériens et en particulier par les graines qui se constituent et emmagasinent à leur tour à l'état de réserve une partie du sucre qu'elles reçoivent, la mise en réserve des matériaux sucrés dans le tubercule consistait en une polymérisation des sucres réducteurs, inversement la migration du saccharose est accompagnée d'une transformation de cette substance en sucres réducteurs

2 Autres exemples d'utilisation de réserves sucrées par des organes végétatifs

Les phénomènes présentés par le tubercule de Betterave au cours de la seconde année de végétation ont une grande généralité considérons de la même manière ce qui se passe chez le Topinambour (*Helianthus tuberosus*), nous avons vu que cette plante emmagasine dans ses tubercules, à l'état d'inuline, les sucres fabriqués par les organes foliaires, ces sucres, amidon, saccharose, glucose et lévulose, émigrent du lieu de leur production et se transforment à partir de la tige en inuline, dans les gros tubercules cette dernière substance n'est accompagnée que d une petite quantité de sucre réducteur (15 p 100 du sucre total)

Pendant la période de repos correspondant à la saison froide, la réserve sucrée ne subit que de légères modifications, mais au printemps qui suit, lorsque le tubercule germe pour donner naissance à une nouvelle tige, on le voit se faner, se ramollir jusqu'à devenir absolument spongieux et, finalement, entrer en putré-

faction Pendant cette période, il est aisé de constater que le taux en sucres réducteurs augmente sensiblement aux dépens de l'inuline, les monosaccharides sont représentés par environ 4 parties de lévulose et une de glucose, dans la jeune tige souterraine, il y a par contre un excès de glucose par rapport au lévulose, fait qui s'expliquera ultérieurement, faisons d'ailleurs remarquer que dans le cas que nous considérons et qui se rapporte à une tige se développant à l'abri de la lumière, la cause d'erreur que nous avons signalée pour la Betterave se trouve éliminée

Nous assistons donc encore ici à une migration des réserves constituées pendant l'année précédente, avec simplification préalable du sucre emmagasiné, formation et disparition des réserves nous apparaissent encore ici comme correspondant à des transformations chimiques inverses

Les tubercules de Pomme de terre présentent des phénomènes analogues, mis en terre au printemps, ils développent de nouvelles tiges vers lesquelles émigrent les sucres réducteurs provenant de la transformation de la réserve figurée amylacée, les cellules se vident rapidement et bientôt le tubercule est réduit à son enveloppe subérisée, la solubilisation de l'amidon correspond ici à un phénomène morphologique particulièrement frappant et la disparition de la réserve apparaît avec une évidence encore plus grande que dans les cas précédemment envisagés

Nous avons vu de même s'accumuler dans les tubercules de Colchique de l'amidon pendant l'été, la vie ralentie cesse à l'automne, après la floraison, et nous assistons à une diminution progressive de l'amidon,

en même temps qu'augmentent les dextrines, le saccharose et les sucres réducteurs, les nombres ci-dessous rendent compte de ces transformations (Leclerc du Sablon), ils sont rapportés à 100 de substance sèche

Dates	Amidon	Dextrine	Saccharose	Réducteur
5 juillet	68	2	1	0 3
3 novembre	63	11	1	0 3
15 janvier	42	11	7	3
14 février	28	7	13	5
12 avril	14	6	13	11

L'amidon et les dextrines qui en proviennent diminuent progressivement au profit du saccharose et des sucres réducteurs

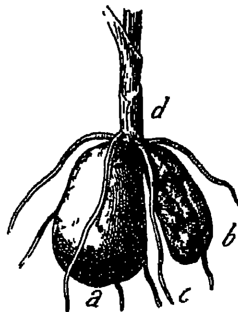


Fig 1 — Tubercules d'*Orchis*, *a*, tubercule de formation récente, *b* tubercule flétri dont les réserves ont été utilisées pour le développement de la plante de l'année

Les choses ne sont pas différentes pour les tubercules d'origine radiculaire des Orchidées, dans lesquels nous voyons au printemps, à la reprise de la végétation, disparaître les deux réserves ternaires correspondant à des cellules différentes, l'amidon et des mucilages Le tubercule à partir duquel émigrent les substances sucrées de réserve se ride et se dessèche progressivement et on le distingue aisément par son aspect du nouveau tubercule qui se constitue et qui est au contraire lisse et de consistance dure (fig 1)

Dans les bulbes il en va encore de même et il nous suffira de rapporter ici les nombres correspondant aux quantités d'amidon, de dextrine, de saccharose et de sucres réducteurs contenus dans les bulbes de Jacinthes, à partir du moment où ils entrent dans une nouvelle période de végétation active (LECLERC DU SABLON), comme précédemment ces nombres sont rapportés à 100 de substance sèche

DATES	Amidon	Dextrine	Saccharose	Réducteur
27 mai	29	26	1	0,5
11 novembre	26	21	3	2
18 décembre	8	25	5	3
10 février	4	15	5	8

Qu'il s'agisse encore comme organes de réserve de rhizômes ou, comme pour l'*Agave*, de feuilles vertes charnues, dont l'ensemble constitue une sorte de bulbe étalé, on voit dans tous les cas les réserves qui se sont constituées subir une digestion et émigrer sous un état simplifié vers les organes en voie de développement, c'est ce qui arrive par exemple pour l'*Agave* au moment de la floraison qui termine l'évolution individuelle de cette plante

Signalons enfin le cas des réserves ternaires, amylacées ou cellulosiques, qui se constituent dans les tiges et les racines des arbres au cours de la période estivale, il s'agit alors d'organes auxquels ne correspond aucune différenciation morphologique particulière, mais qui physiologiquement se comportent comme les organes précédemment envisagés Il est facile de constater qu au printemps, avant même l'épanouissement des bourgeons, l ensemble des polysaccharides contenus dans la racine subit une diminution notable dans un arbre

tel que le Poirier, ils passent de 30 p. 100 de substance sèche (18 février) à 22 p. 100 (13 avril). Les sucres réducteurs qui proviennent de leur transformation passent de la racine dans la tige, comme il est aisé de le démontrer en comparant la teneur en sucres utilisables des racines de deux Poiriers, l'un normal, l'autre ayant subi une décortication annulaire au niveau du sol, à une époque (début de février), qui précède la simplification des réserves, les deux racines contiennent respectivement les taux suivants de sucre total

	Non décortiqué	Décortiqué
18 février	30,3	»
13 avril	22,4	25,6
16 juin	27,9	27,9
4 août	29,2	26,5
24 septembre	33,8	19,3
1er décembre	29,3	17,4

La diminution que subit au printemps la racine du second arbre est beaucoup plus faible que celle qui se rapporte à l'arbre normal parce que les substances provenant de la digestion des réserves n'ont pu émigrer dans la tige, par suite de la discontinuité qui a été réalisée dans l'appareil libérien, nous assistons ensuite à un phénomène inverse, la racine de l'arbre décortiqué continue à s'appauvrir en matières sucrées, alors que celle de l'arbre témoin en reçoit à partir du mois de mai, provenant de l'assimilation chlorophyllienne des nouvelles feuilles.

Le phénomème de simplification des substances de réserve ne s'applique donc pas qu'à des organes différenciés au point de vue morphologique, elle se retrouve pour toutes les cellules dans lesquelles il se forme des matières ternaires complexes pouvant avoir un caractère

de réserve, même très transitoire, c'est par exemple le cas de toute Algue verte unicellulaire qui pendant le jour élabore de l'amidon ou des produits analogues et qui pendant la nuit utilise tout ou partie de ces substances en les digérant au préalable, c'est aussi le cas de toute feuille verte, dans laquelle nous avons vu se produire de l'amidon pendant la journée, par suite de la polymérisation des sucres résultant de l'assimilation chlorophyllienne, pendant la nuit, cet amidon disparaît, en partie ou en totalité et émigre vers la tige à l'état de sucres solubles.

D'une manière analogue il s'effectue à l'automne dans les feuilles caduques une digestion et une migration de matériaux ternaires, hémicelluloses, amidon, dextrines qui restent accumulés. On sait qu'à ce moment les feuilles changent de teinte, la chlorophylle disparaît et c'est la teinte jaune de la xanthophylle et de la carotine qui apparaît, souvent masquée d'ailleurs par l'apparition de pigments rouges anthocyaniques; c'est dans la période qui précède immédiatement le jaunissement que nous voyons s'opérer la simplification moléculaire des polysaccharides et la migration vers la tige des produits qui en résultent.

3. Digestion dans les fruits charnus

On observe encore une digestion présentant les mêmes caractères dans le cas des fruits charnus; nous avons déjà vu qu'il s'agit d'organes assez particuliers du fait que les substances ternaires qui s'accumulent paraissent ne jamais être reprises, ou seulement en très faible quantité, par la plante ou par les graines qu'ils

contiennent. Mais au moment de leur maturation ils peuvent présenter une simplification des substances ternaires, telles que l'amidon, absolument semblable à celle que nous venons de voir se réaliser dans les organes ayant nettement le caractère de réserve.

C'est ainsi que les Pommes présentent, lorsqu'elles sont jeunes, une saveur acide et astringente et deviennent ensuite de plus en plus sucrées ; on constate que ce changement correspond à une disparition progressive de l'amidon qui est remplacé par du saccharose et du sucre interverti ; une pomme *détachée* de l'arbre contient ainsi, à différentes dates, les quantités suivantes de ces trois substances (Lindet) :

DATES	Amidon	Saccharose	Réducteur
24 juillet	1	0,2	1,4
23 août	2,2	0,6	3,8
21 septembre	2,3	1,5	5
18 octobre	1,6	2,8	6,5
3 novembre	0,6	2,2	7,2

On voit qu'à partir du 21 septembre l'amidon disparaît alors que les sucres solubles augmentent, mais la quantité d'amidon disparue à la fin de l'expérience (1,7) est insuffisante pour rendre compte de l'augmentation des sucres solubles $(2,2 - 1,5) + (7,2 - 5) = 2,9$; nous verrons ailleurs comment on peut expliquer ce phénomène par une autre source de sucres réducteurs, résidant dans les acides organiques.

4. Digestion des réserves des graines lors de la germination

Les phénomènes de digestion des réserves et de leur migration dans les organes en voie de développement

se présentent avec une netteté particulière dans les graines, en raison de leur étroite localisation, nous en considérerons différents exemples, se rapportant aux

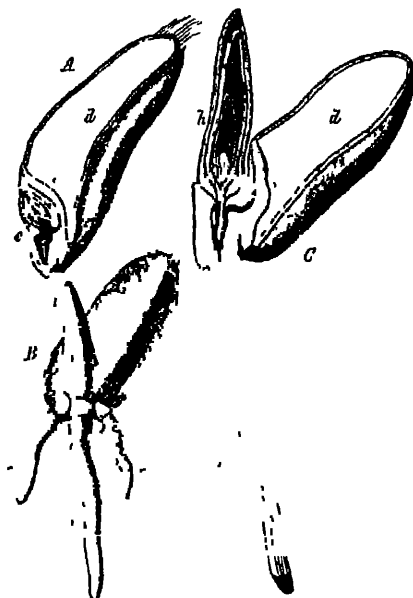


Fig. [illegible]. — Grain de blé. A, coupe longitudinale laissant voir l'embryon qui présente un cotylédon *s* en forme de bouclier, appliqué contre l'albumen *d*. *B*, *C*, deux stades de la germination (Sachs).

graines à réserves amylacées, cellulosiques ou oléagineuses.

A. Graines amylacées et cellulosiques.

Considérons tout d'abord un caryopse de graminée (blé, seigle, orge...), type de semence à albumen amy-

lacé, si on effectue une coupe passant par le plan de symétrie d'un tel grain (fig 2 A), on observe latéralement, en dedans du péricarpe et des téguments qui lui sont étroitement soudés, un embryon dont l'unique cotylédon est très développé et présente la forme d'un bouclier (scutellum), cette feuille primordiale est en contact, du côté opposé au reste de l'embryon, avec le tissu de l'albumen, toutes les cellules de celui-ci sont bourrées d'amidon, sauf les cellules périphériques qui sont par contre très riches en matières azotées et constituent l'assise protéique

Placé dans des conditions convenables de température, d'humidité et d'aération, le grain ne tarde pas à se gonfler et on voit bientôt sortir la radicule, puis la gemmule (fig 2, B et C), en même temps on assiste à une disparition progressive de l'amidon, la solubilisation de celui-ci se traduit par un phénomène morphologique facile à observer et consistant dans une corrosion, souvent irrégulière, des grains d'amidon (fig 3) D'ailleurs on reconnaît dans l'albumen du grain de maïs non germé, contre l'embryon, l'existence d'une zone blanche, qui correspond à des cellules où les grains d'amidon présentent de telles corrosions (fig 4), le fait tient à ce qu'avant la dessiccation du grain l'albumen a commencé à subir un début de digestion

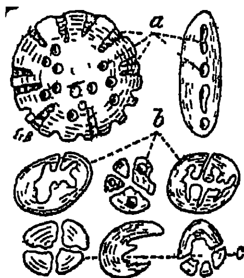


Fig 3 — Grains d'amidon de blé (*a*), de jacinthe (*b*) et de haricot (*c*) présentant des phénomènes de corrosion correspondant à leur digestion

Les graines amylacées sans albumen (haricot, pois...) offrent les mêmes phénomènes au moment de la germination, la seule différence consiste en ce que la réserve est alors située dans les cotylédons, c'est-à-dire dans l'embryon lui-même (fig. 5), et encore cette différence ne correspond-elle qu'à des états différents du développement réalisés par l'embryon au moment où la graine se dessèche, chez le haricot, il s'est aussi formé un albumen, mais celui-ci a été digéré de bonne heure et de nouvelles réserves se sont constituées à ses dépens dans les cotylédons, l'embryon du haricot représente un état plus avancé que celui des Graminées, un cas intermédiaire, réalisé par exemple chez le Caroubier, correspond à une digestion incomplète de l'albumen, si bien que dans la graine adulte les réserves se trouvent à la fois dans ce qui reste de l'albumen et dans les cotylédons qui sont charnus.



Fig. 4. — Coupe longitudinale d'un caryopse de maïs. On aperçoit contre le cotylédon une zone d'albumen blanche et molle qui a été en partie digérée par l'embryon avant la maturité du grain.

Si on dose l'amidon contenu dans des graines amylacées en voie de germination, on constate une diminution continue de cet amidon, comme en témoignent les nombres qui suivent et qui se rapportent à 100 graines de *Phaseolus multiflorus* (G. ANDRÉ).

Durée de la germination (jours)	Poids de la substance sèche (gr.)	Amidon (gr.)
0	117	62
7	99	54
9	99	52
12	84	35
15	78	20
19	106	16
23	134	15

On constate d'autre part que le poids de la plantule diminue jusqu'au quinzième jour pour augmenter ensuite ; nous allons revenir sur cette perte de poids ; quant au gain de substance sèche qui suit il est dû à l'assimilation chlorophyllienne de la jeune plante.

Si d'autre part on vient à broyer des grains de blé, lorsque la radicule a atteint quelques centimètres de longueur, et à filtrer le liquide, on constate aisément que celui-ci réduit fortement la liqueur de FEHLING, alors que rien de tel ne se produit avec le grain non germé ; il s'est donc produit des sucres réducteurs à partir de l'amidon ; on peut également déceler la présence des dextrines ; on est en présence des substances qui ont contribué à former l'amidon lors de sa mise en réserve.

Les substances sucrées solubles formées aux dépens de l'amidon disparaissent du reste en partie du fait de phénomènes d'oxydation rentrant dans la fonction

respiratoire et cela explique la perte de poids notable que subit la graine pendant la première période de germination. D'autre part, les sucres solubles formés

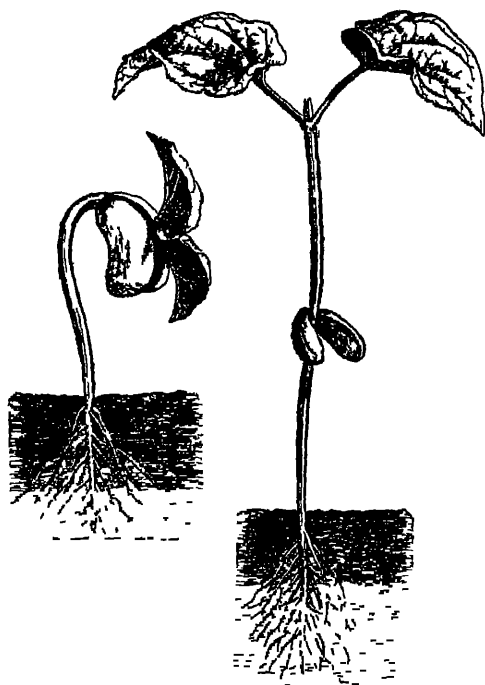


Fig. 5. — Deux stades de la germination du haricot ; au second stade les cotylédons commencent à se flétrir.

servent à édifier de nouvelles cellules et c'est à leurs dépens que se constituent en particulier les membranes cellulosiques, c'est ce qui résulte nettement des nombres qui suivent, ils se rapportent à

100 graines de *Phaseolus multiflorus* pour lesquelles on a évalué, à diverses phases de la germination, les poids de substance sèche, des sucres (amidon et sucres solubles) et de la cellulose

Durée de la germination (jours)	Poids de la substance sèche (gr.)	Sucres	Cellulose
0	109	56	7
8	96	47	8
15	79	20	11
7	137	32	20

Nous avons vu précédemment que le point de congélation des sucs végétaux est en rapport direct avec leur pression osmotique, qui varie elle-même en sens inverse du poids moléculaire des substances cristalloïdes dissoutes, à égalité de concentration de celles-ci ; il doit en résulter que pour des graines amylacées le point de congélation doit s'abaisser au fur et à mesure que se poursuit la simplification des substances de réserve, les déterminations de MAQUENNE conduisent en effet, pour les poids moléculaires moyens des substances solubles contenues dans des graines en voie de germination, aux nombres suivants, calculés d'après l'abaissement du point de congélation, et mettant bien en évidence une simplification progressive

	Durée de la germination (jours)	Poids moléculaire moyen
Seigle	8	445
	12	203
	30	167
Pois	8	306
	15	199
	40	112

Dans les graines à réserve cornée, correspondant à un épaississement considérable des parois, et constituée par des hémicelluloses, on observe également au moment de la germination, la liquéfaction des membranes cellulaires et la production concomittante de sucres réducteurs (mannose et galactose), c'est ce qui se passe pour les graines de Dattier (fig 6), de Caféier, d'*Allium*, de Capucine chez lesquelles la réserve est formée presque entièrement par des hémicelluloses, mais le même phénomène de digestion des membranes cellulaires se produit d'ailleurs pour des graines dont la matière principale est d'une autre nature, lors de la germination des graines amylacées par exemple les membranes cellulaires de l'albumen s'amincissent beaucoup, puis disparaissent, il s'opère aussi pour elles une véritable digestion

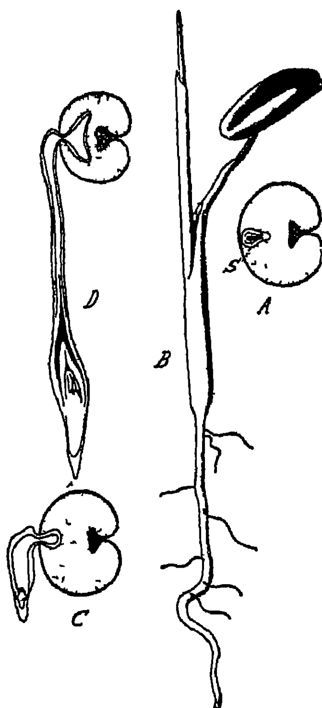


Fig 6, — Graine de Dattier en voie de germination, l'embryon *S* présente un cotylédon dont la partie terminale reste en contact avec l'albumen corné et le digère, tandis que l'allongement de la portion proximale détermine la sortie du reste de la plantule (*D*)

B Graines oléagineuses

Considérons enfin une graine dont la réserve ternaire est constituée par de l'huile, lorsqu'elle est placée dans les conditions requises pour sa germination il est aisé de constater que les matières grasses disparaissent progressivement, des analyses permettent d'établir ce fait qui est déjà rendu évident par un examen histologique, l'huile qui existe dans la graine sèche à l'état de très fine émulsion protoplasmique se rassemble tout d'abord en grosses gouttelettes et bientôt celles-ci diminuent en taille et en nombre

Cette disparition des matières grasses au cours de la germination des graines oléagineuses est assez faible au début, elle devient ensuite très rapide, comme en témoignent les nombres qui sont rapportés ci-dessous (Maquenne)

Durée de la germination (jours)	Arachide	Ricin
0	51,4	51,4
6	49,8	33,7
10	32,2	5,7
12	29	6,5
18	20,5	3,1
28	12,2	»

Les graines d'Amande douce et de Noix présentent le même phénomène (Leclerc du Sablon)

Amande douce		Noix	
Stade de la germination	Taux de l'huile	Stade de la germination	Taux de l'huile
Graine sèche	50	Graine sèche	63
Radicule de 2 cm	42	Radicule de 4 cm	60
— de 20 cm	7	— de 15 cm	14

Cette disparition des graisses dans la graine s'explique-t-elle par une transformation s'opérant sur place ou ces graisses émigrent-elles, au moins en partie, dans les nouveaux organes de la jeune plantule ? L'étude simultanée du taux des corps gras dans les divers organes permet de répondre à cette question ; les données fournies à cet égard par les divers auteurs sont concordantes et j'en transcris ici quelques-unes (comme précédemment, les nombres se rapportent à 100 de substance sèche) :

État de la plante	Total des corps gras	Cotylédons	Hypocotyle	Racine
		COURGE (PETERS)		
Graine	49,5	»	»	»
Radicule de 3 cm	51,7	40,5	6,4	4,8
5 à 6 radicelles	33,4	26,4	3,9	3,1
Cotylédons verts	12,7	7,2	2,7	2,8
		ARACHIDE (SCHMIDT)		
Graine	23,1	»	»	»
Hypocotyle de 5 mm	18,7	18,4	»	0,34
— de 20 mm	16,6	14,3	»	0,35
Premières feuilles	10,3	10	»	0,26

En même temps que nous assistons à une diminution du taux de l'huile dans les cotylédons, qui sont ici les organes de réserve, nous constatons la présence de corps gras dans les différentes parties de la plante, mais la teneur de celle-ci en huile est toujours assez faible et la transformation des substances grasses apparaît comme s'effectuant principalement dans les cotylédons ; ceux-ci cèdent donc à la plantule à la fois de l'huile et les substances qui dérivent de la trans-

formation d'une notable partie des corps gras, effectuée dans l'organe de réserve lui-même

D'ailleurs la faculté que possèdent les tissus de réserve oléagineuse de décomposer leur huile a été démontrée par VAN TIEGHEM, des albumens de Ricin, séparés de l'embryon et placés à 30° à l'humidité, décomposent leurs substances grasses qui sont remplacées par de l'amidon, HANSEN a fait des constatations analogues en ce qui concerne les cotylédons d'*Helianthus annuus*

A quelles substances aboutit cette transformation des corps gras lors de la germination ? Nous savons que les huiles sont des éthers neutres de la glycérine, constitués à partir d'acides gras, nous pouvons nous attendre à trouver dans la plantule, lors de la disparition des huiles, leurs deux constituants En ce qui concerne la glycérine, on n'a jamais pu la déceler, pas plus que nous n'avons pu constater sa présence au moment de la formation des substances grasses, mais par contre il est facile de mettre en évidence la production d'acides gras libres lors de la germination

Pour l'*Helianthus annuus*, SCHMIDT constate que le pourcentage des acides gras libres est représenté comme il suit aux diverses phases de la germination

Graine	1,6
Hypocotyle de 20 mm	4,6
de 40 mm	13,8

5 grammes de graines de Radis ont de même présenté successivement les quantités suivantes d'huile et d'acides gras

Durée de la germination (jours)	Huile	Acides gras	Acides gras p. 100 d'huile
0	1,75	0,18	10
2	1,64	0,89	55
3	1,54	1,21	79
4	0,79	0,75	95

Enfin Leclerc du Sablon a observé que 500 grammes d'huile de Ricin sont neutralisés par les quantités suivantes (g.) de baryte suivant la période à laquelle est extraite cette huile :

Graine	0,4
Radicule de 7 mm	0,6
— de 2 cm	1
— de 3 cm 5	2,9
— de 9 cm	6,6
— de 10 cm	24,7

C'est d'ailleurs dans la plantule que le taux d'acidité augmente davantage ; il nous suffira de rapporter à cet égard les données fournies par Miller relativement à l'*Helianthus annuus* ; elles se rapportent aux quantités d'acides gras libres pour 100 d'huile :

Stade de la germination	Graine	I	II	III	IV	V
Graine	1,6	»	»	»	»	»
Cotylédons	»	1,7	1,5	4,6	27,5	66,8
Hypocotyle et racine	»	18,2	26	27,1	58,3	97,8

La phase II correspond au moment où les cotylédons arrivent à la surface du sol, la phase V est caractérisée par l'étalement des cotylédons. Les nombres que nous venons de transcrire pourraient s'expliquer par le

fait que les cotylédons ne cèdent que des acides gras ou au contraire qu'ils abandonnent des huiles et que la propriété de décomposer celles-ci présente sa plus grande intensité dans les tissus en voie de formation. Mais des graines broyées et placées dans des conditions propices à la germination présentent une augmentation considérable de leur acidité, nous pouvons donc rejeter la seconde hypothèse.

Une fois constitués les acides gras subissent des modifications sur la nature desquelles nous sommes encore mal renseignés ; nous savons, par exemple, que l'indice d'iode qui, on se le rappelle, est fonction des liaisons supplémentaires existant dans la molécule de certaines graisses, subit un abaissement notable au cours de la germination ; il passe de 173 pour la graine de Lin à 93 pour la plantule correspondante de huit jours (IVANOW). De son côté, MILLER a observé une augmentation de l'indice de saponification, correspondant à un abaissement du poids moléculaire moyen des acides gras ; il s'opère donc une simplification des acides gras provenant des huiles.

Les acides gras à leur tour vont subir une régression et, d'une manière concomitante, on va voir se produire dans la jeune plante des substances sucrées, alors même que la germination s'effectue à l'obscurité ; nous devons donc considérer ces substances, saccharose, sucres réducteurs, amidon, cellulose, comme provenant d'une transformation des acides gras. Rapportons par exemple les nombres fournis par IVANOW qui renseignent sur les taux d'huile et de sucres contenus à différents stades du développement de la graine ; les sucres ont été dosés à l'état de sucres réducteurs provenant d'une hydrolyse

de la graine dégraissée, hydrolyse réalisée par de l'acide sulfurique à 2 p. 100.

	GRAINE		PLANTULE DE 4 JOURS		PLANTULE DE 8 JOURS	
	Huile	Sucre	Huile	Sucre	Huile	Sucre
Lin	33,0	4,5	20,4	6,7	16	17,7
Chanvre	31,3	[illegible],8	17,8	7,9	11,3	10,3
Colza	38,3	4,7	35,1	14,7	33,3	10,[illegible]
Pavot	47	1,8	38,6	6,9	36,3	17,4

Le sucre qui paraît provenir en premier lieu de la transformation des acides gras est le saccharose, comme le saccharose nous a paru être le sucre aux dépens duquel se constituent les acides gras lors de la maturation de la graine. Il nous suffira de transcrire ici quelques résultats fournis par le dosage du saccharose et des sucres réducteurs à différentes phases de la germination (LECLERC DU SABLON).

LIN			ARACHIDE		
Longueur de la radicule	Réducteur	Saccharose	Longueur de la radicule	Réducteur	Saccharose
cm			cm		
0	0	1,6	0	0	3,1
0,8	0,6	2,9	0,3	0	3,9
1,8	1,5	4,3	[illegible]	0,8	5,8
[illegible]	3,3	5	2,5	[illegible]	11
3	4,[illegible]	6,5	3,5	4,3	10,6
3,5	3,3	6,7	4	3,9	8,[illegible]
4	4,4	8,4	5	10,[illegible]	5,8

La production du saccharose est dans les deux cas nettement antérieure à celle des sucres réducteurs

L'utilisation des réserves oléagineuses nous apparaît donc, comme celle des réserves sucrées, marquée par la même série de phénomènes que celle qui a présidé à leur formation, l'ordre des réactions est simplement inversé, nous aurons bientôt l'occasion de préciser cette première conclusion et de ramener les deux séries de faits à un unique phénomène

5. Digestion des substances ternaires par les plantes ou les organes hétérotrophes

Les phénomènes de digestion que nous venons de constater chez les plantes supérieures pourvues de chlorophylle se retrouvent chez les plantes hétérotrophes saprophytes, c'est-à-dire celles qui utilisent des substances organiques provenant d'autres êtres vivants, mais ne faisant plus partie de ceux-ci Nous avons déjà dit qu'il n'est pas de substance ternaire qui ne puisse être alimentaire pour certains Champignons ou certaines Bactéries, mais avant d'être utilisées, il est nécessaire, du moins pour celles qui offrent une assez grande complication, qu'elles subissent une simplification, on les voit se transformer, sous l'action des microorganismes, comme lorsqu'il s'agit d'une matière de réserve utilisable par la plante même qui l'a constituée

Considérons par exemple une solution de saccharose, si on l'abandonne à l'air, sans précautions particulières, on constate qu'assez vite le liquide présente du sucre interverti et cette transformation résulte de l'action de

Bactéries ou de Moisissures qui se développent dans le liquide, le saccharose est dédoublé, comme il se dédouble au début de la seconde année de végétation dans la Betterave. Remplaçons le saccharose par de l'empois d'amidon, il ne tarde pas lui aussi à donner naissance à une végétation microscopique qui solubilise l'amidon et il est facile de voir que cette substance passe par les stades de dextrine, de maltose et de glucose, comme il arrive pour un albumen amylacé au moment de la germination et comme on a vu qu'il était possible de décomposer l'amidon par l'action des acides étendus à chaud.

L'identité des phénomènes de digestion s'observerait de même pour toutes les substances ternaires qui ne sont pas directement assimilables, que ce soit des disaccharides (saccharose, maltose, lactose...), des polysaccharides (amidon, inuline, cellulose, mucilages, composés pectiques), des glucosides ou des corps gras.

C'est encore de la même manière que les plantes parasites agissent sur les substances ternaires de réserve des êtres aux dépens desquels elles se nourrissent; les échanges qui interviennent alors sont encore assez mal connus au point de vue chimique, mais l'étude histologique des tissus attaqués par un parasite suffit à démontrer l'existence d'une digestion. Si on considère le cas de Phanérogames parasites, les *Lathræa* par exemple, s'implantant dans leurs hôtes par des racines-suçoirs (fig. 7), on constate que la pénétration de celles-ci s'effectue par une solubilisation des tissus; on peut suivre en particulier cette transformation sur les produits figurés tels que l'amidon; ils sont corrodés et il est possible de

déceler la formation de dextrines comme substance intermédiaire entre l'amidon et les sucres réducteurs qui sont absorbés par le suçoir, on voit de la même façon disparaître la cellulose, les réactions de diverses matières solubles, glucosides, tannins, cessent éga-

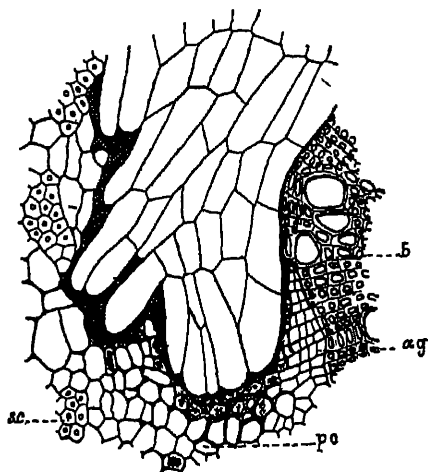


Fig. 7 — Extrémité d'un suçoir de *Lathræa Squamaria* pénétrant dans une racine d'*Acer campestre* et digérant les tissus qui sont à son contact.

lement de se produire, elles aussi sont utilisées, il n'est pas jusqu'aux membranes lignifiées qui ne puissent être aussi attaquées.

Il en va de même de divers Champignons parasites, tels que les Urédinées et les Péronosporées par exemple, les filaments de ces végétaux se nourrissent aux dépens de la lamelle moyenne des membranes cellulaires et

de place en place émettent des ramifications qui, digérant la membrane cellulosique, pénètrent dans le protoplasme même des cellules hospitalières, les Polyporées vivant aux dépens des troncs d'arbre se comportent d'une manière analogue, leur mycélium agit en particulier sur les membranes lignifiées, décomposent la lignine et corrodent les membranes qui offrent les réactions de la cellulose pure

La figure 8 représente un fait de même ordre, il s'agit de la paroi intestinale d'une chenille présentant en plusieurs régions une digestion réalisée par les cellules d'une Entomophthorée

C'est d'ailleurs d'une manière tout à fait artificielle et provisoire que nous avons envisagé à part, dans les pages qui précèdent, les plantes vertes et les végétaux dépourvus de chlorophylle, car au moment où les réserves sont utilisées dans une plante autotrophe la digestion et l'utilisation des produits qui en résultent sont opérées, au moins au début, par des tissus incolores, se comportant de tous points comme un organisme hétérotrophe, les rameaux souterrains issus des tubercules de Topinambour ou de Pomme de terre, l'embryon d'une graine vivent aux dépens des réserves mises à leur disposition d'une manière absolument identique à des Moisissures qui se développent sur des matières organiques empruntées à d'autres êtres vivants, on peut même les comparer plus exactement à des parasites, de même un bourgeon qui se développe aux dépens d'une tige et plus généralement toute cellule nouvelle qui apparaît dans le corps de la plante Dans le cas d'un embryon digérant l'albumen l'assimilation à un phénomène de



Fig 8 — Coupe d'une chenille attaquée par un *Empusa* (Entomophthorée) On y voit la paroi intestinale en dedans de laquelle se trouvent des morceaux de la feuille rongée par la chenille et qui subit en plusieurs endroits une digestion du fait de l'*Empusa*

parasitisme s'impose d'une manière toute particulière, puisque l'albumen doit être considéré comme une plante sœur de l'embryon.

On retrouve du reste d'autres cas assez nombreux de digestion, s'opérant dans le corps des plantes vertes vasculaires, qui sont, par leur allure morphologique, nettement assimilables à des faits de parasitisme. Signalons par exemple ce qui se passe pour les jeunes radicelles. Dans les Phanérogames, les radicelles ont une origine profonde et se constituent aux dépens de cellules péricycliques, pour arriver au dehors il est donc nécessaire que le jeune organe perfore les tissus corticaux qui le séparent de l'extérieur, c'est par un phénomène de digestion que s'opère cette sortie des radicelles, tantôt ce sont les tissus périphériques de la radicelle elle-même, tantôt c'est l'assise endodermique de la racine mère qui se comporte comme assise digestive, mais, quoi qu'il en soit de ces variations morphologiques, le phénomène est toujours essentiellement le même et on assiste à une dissolution de toutes les cellules corticales qui sont successivement en contact avec la poche en question (fig. 9), la diges-

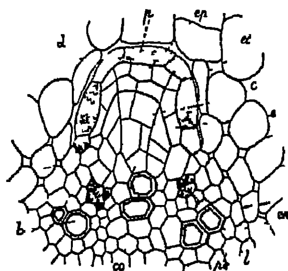


Fig. 9. — Premiers stades du développement d'une radicelle de *Tradescantia*, la jeune radicelle est entourée par une poche digestive *p*, de nature endodermique, grâce à laquelle s'opère la digestion des cellules corticales et la sortie de la radicelle (Van Tieghem).

tion s'étend à tout le contenu cellulaire (protoplasme, noyau, amidon, etc.), ainsi qu'à la membrane cellulosique, les produits de cette digestion sont absorbés par l'organe en voie de croissance et nous nous trouvons bien en face d'un cas caractérisé de parasitisme.

On retrouve quelque chose d'analogue au cours du

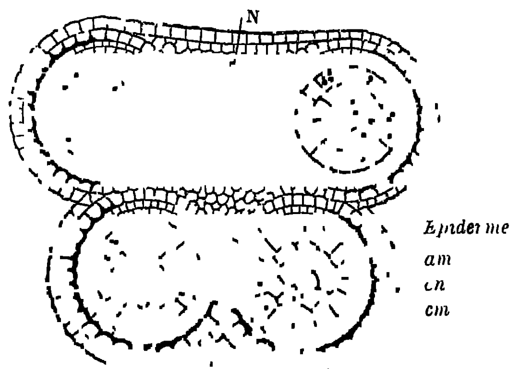


Fig. 10. — Coupe transversale d'une anthère montrant les quatre sacs polliniques; chaque massif de cellules-mères *cm* est entouré par des cellules nourricières *cn* qui subissent une digestion.

développement du sac pollinique; quand les cellules-mères qui doivent donner naissance aux grains de pollen se trouvent constituées elles forment un massif qui est entouré par des cellules à contenu protoplasmique abondant et qu'on désigne sous le nom d'assise nourricière (fig. 10); cette désignation indique suffisamment le sort ultérieur de ces éléments qui sont digérés et complètement résorbés par les cellules

mères, elles contribuent ainsi à la nutrition des cellules reproductrices

On observe une digestion analogue du nucelle de l'ovule par l'albumen, digestion qui précède celle de l'albumen par l'embryon

Si nous considérons encore un grain de pollen qu'on fait germer dans une solution sucrée ou sur le stigmate du pistil correspondant, on observe des phénomènes

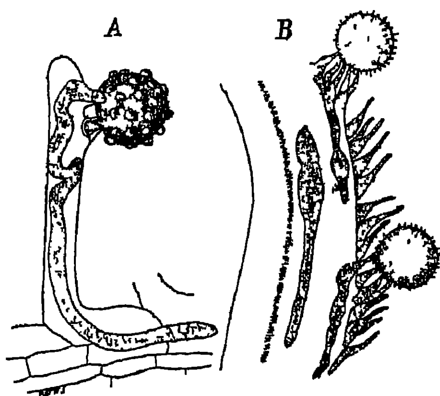


Fig. 11 — Germination du grain de pollen sur le stigmate, *A* dans l'*Agrostemma Githago*, *B* dans la Mauve, en *A* le tube pollinique a percé la membrane d'une cellule papillaire du stigmate

qui rappellent absolument ce qui se passe lorsqu'on s'adresse à une spore de Champignon, la cellule mâle émet un tube semblable à un filament mycélien, il se nourrit en saprophyte aux dépens de la solution ou même en parasite sur le stigmate, il peut en effet perforer les cellules de celui-ci (fig. 11) et grâce aux

substances qui sont ainsi à sa portée il peut s'allonger jusqu'à atteindre un ovule où s'opère le phénomène de la fécondation

Signalons enfin un véritable cas de parasitisme réalisé chez les plantes vertes supérieures par certains embryons, la nutrition parasitaire de ceux-ci se traduit quelquefois par la constitution d'un appareil morphologique rappelant absolument les suçoirs des plantes parasites, c'est ce qu'on observe en particulier chez certaines Orchidées, la figure 12 représente différents stades du développement de l'embryon de

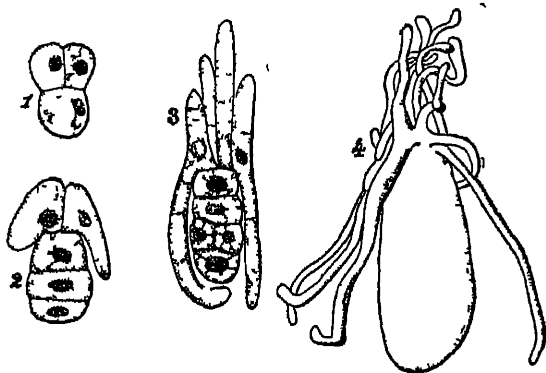


Fig. 12 — Quatre stades du développement de l'embryon de *Phalænopsis grandiflora*, montrant la transformation du suspenseur en filaments entourant l'embryon proprement dit (TREUB)

Phalænopsis grandiflora, l'unique cellule résultant de la fécondation se divise tout d'abord en une cellule inférieure qui donnera naissance à l'embryon proprement dit, la cellule supérieure se divise de son côté en une série d'éléments constituant le suspenseur

et formant une série de filaments qui entourent l'embryon, l'enveloppent et se comportent comme organes absorbants ; dans l'*Herminium* (fig. 13) ces filaments sortent du sac embryonnaire, vont s'enfoncer dans le placenta et y puisent directement des substances qui servent à nourrir l'embryon.

En résumé les phénomènes de digestion nous appa-

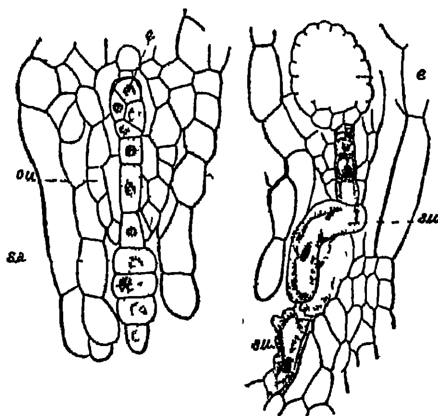


Fig. 13. — Le funicule *su* d'*Herminium Monorchis* se comporte comme un véritable suçoir aux dépens du funicule et du placenta (TREUB).

raissent avec une grande unité fondamentale dans le règne végétal ; la principale différence qu'on puisse retenir est accessoire ; elle correspond au fait que les matières digérées sont tantôt externes, tantôt internes par rapport à l'organe ou à l'être qui l'opère et en tire profit.

Cette différence n'est du reste pas fonction de l'es-

pèce végétale ou de la nature de l'organe considéré Une plante supérieure à l'état d'embryon, ou une plante parasite, commence par utiliser des réserves qui lui sont extérieures, lorsqu'elle-même a reconstitué dans son appareil végétatif de nouvelles réserves, elle les utilise par une digestion interne ou autodigestion pour la formation de nouveaux organes végétatifs ou reproducteurs De même une Moisissure se développe à partir de ses spores aux dépens de matériaux ternaires qui lui sont extérieurs, lorsque ceux-ci viennent à être épuisés le mycélium cesse de s'accroître, mais les substances accumulées dans ses cellules sont digérées et utilisées pour la formation d'organes reproducteurs, il s'opère encore une autodigestion ou autolyse

CHAPITRE II

LES DIASTASES

---

1 L'amylase

a Extraction

Les phénomènes de digestion des substances ternaires se présentent, nous venons de le constater, avec une grande généralité et des caractères très constants, il nous reste à nous demander quel en est le mécanisme

Reprenons un grain de Graminée, d'Orge par exemple, et isolons l'albumen de la plantule, puis plaçons cet albumen dans les conditions requises pour la germination, nous constatons bientôt que, même en l'absence de microorganismes, c'est-à-dire dans un milieu stérilisé, la digestion s'effectue, elle est plus lente à la vérité qu'en présence de l'embryon, mais on peut l'accélérer en ayant soin d'enlever les substances solubles qui résultent de la transformation de l'amidon, en disposant par exemple l'albumen au sommet d'une petite colonne de gypse plongeant dans de l'eau, la raison de cette accélération nous apparaîtra dans la suite

Faisons la même expérience après avoir débarrassé l'albumen de son assise périphérique, l'assise pro-

téique (fig 14), constituée par des cellules volumineuses, riches en matières albuminoïdes et dépourvues d'amidon, il n'y a plus de digestion ou celle-ci devient très minime

Inversement l'assise protéique mise en contact avec de l'amidon digère celui-ci, ce dont on peut s'assurer

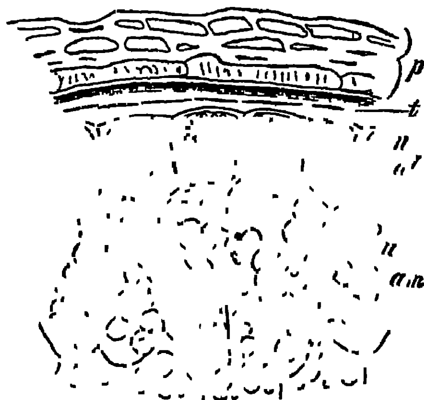


Fig 14 — Coupe de la région extérieure du grain d'Orge, montrant en dedans du péricarpe *p* et du tégument *t* l'assise protéique *al* de l'albumen et le tissu amylacé *am*

au microscope par les figures de corrosion qui se produisent, l'assise protéique apparaît donc comme constituant un tissu actif vis-à-vis de la digestion de l'albumen, mais ce n'est pas le seul

L'embryon isolé, mis en présence d'amidon, digère également celui-ci et cela par l'intermédiaire de cellules épidermiques étroites et allongées (fig 15), l'albumen amylacé est donc digéré à la fois par l'assise protéique et par le cotylédon de l'embryon

On a cru (Green) pouvoir localiser les cellules digestives de l'amidon dans les grains de Céréales par l'action combinée de l'eau oxygénée et de la teinture de gaïac ; on obtient à l'aide de ce réactif une coloration bleue intense des cellules que nous venons de caractériser comme digestives de l'amidon ; mais on a reconnu depuis que ce n'est pas l'agent de cette digestion qui produit la coloration en question ; il s'agit d'un phénomène d'oxydation de la teinture de gaïac qui trouvera son explication plus loin et la réaction qu'on observe se trouve être simplement concomittante de la propriété digestive des cellules considérées.

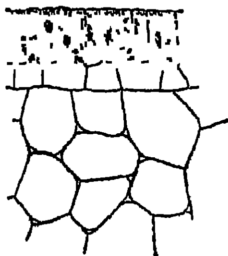


Fig. 10. — Coupe pratiquée dans l'écusson du cotylédon d'Orge, montrant l'épiderme digestif.

On peut aller plus loin et répéter la digestion de l'amidon en extrayant de la graine en voie de germination une certaine substance qui pourra agir *in vitro*. C'est ce qu'on réalise en faisant macérer dans de l'eau du malt concassé ; le malt est constitué par des grains d'Orge qui ont subi un début de germination ; lorsque la radicule a atteint une faible longueur les grains ont été portés à une température assez élevée, 50° C environ, dans une atmosphère renouvelée ; ils se sont desséchés et la germination a été ainsi arrêtée à un stade où l'expérience a montré que la substance active de la digestion de l'amidon s'est constituée, mais elle n'a pas eu le temps d'agir

d'une manière notable sur la réserve des grains et le malt ne diffère des grains non germés que par la présence de cette substance et par le fait que l'embryon est tué, c'est ce malt qui est utilisé dans la fabrication de la bière qui comprend précisément comme première opération la digestion de l'amidon

Si donc on traite du malt par de l'eau, qu'on laisse environ une demi-heure en contact, et qu'on filtre jusqu'à obtenir un liquide clair, il est facile de constater que ce liquide est capable de transformer l'amidon, préparons à cet effet un empois épais d'amidon à 10 p. 100, ajoutons quelques centimètres cubes d'une infusion de malt et abandonnons le tout à une température d'environ 60°, après avoir ajouté 1 p. 100 de fluorure de sodium pour empêcher le développement de bactéries ou d'autres microorganismes, on voit bientôt la masse pâteuse devenir de plus en plus fluide et acquérir la propriété de traverser facilement un filtre en papier

Au bout de quelque temps on constate dans le liquide la présence d'un sucre réducteur qui est du maltose, d'autre part, si on fait des prises de 5 minutes en 5 minutes, on observe que la coloration bleue que prenait au début le liquide par l'iode coloration caractéristique de l'amidon, disparaît pour faire place à une coloration violette, puis brune, enfin d'un jaune faible correspondant à la formation de dextrines (amylodextrine, érythrodextrine, achroodextrine) La simplification de l'amidon s'arrête au stade de maltose dans les conditions où nous nous sommes placés Il y a donc identité entre la transformation de l'amidon s'opérant sous l'action des acides étendus à chaud et

celle qui résulte de l'action de l'infusion de malt, la seule différence réside en ce fait qu'en présence des acides le maltose se dédouble à son tour pour donner du glucose

D'autre part, l'infusion du malt produit les mêmes transformations de l'amidon que celles qu'on observe dans le grain germant normalement, l'élaboration du principe digestif actif se trouve d'ailleurs liée aux autres phénomènes de la germination, il n'existe pas dans les grains non germés et n'apparaît pas dans des grains qui se trouvent placés dans des conditions de température et d'humidité favorables à la germination, mais qu'on soustrait à l'action de l'oxygène

Mais l'infusion de malt contient en dissolution un grand nombre de substances et il s'agit de tenter d'isoler celle qui provoque la transformation de l'amidon On peut obtenir une substance active plus pure en traitant l'infusion par de l'alcool fort qui détermine la précipitation d'une masse qui, reprise par l'eau, conserve toutes les propriétés digestives de l'infusion primitive, alors que les substances non précipitées par l'alcool se montrent à cet égard sans action, mais le précipité obtenu, s'il contient la substance recherchée, correspond encore à un mélange de différents composés On a proposé différents procédés pour diminuer la quantité de substances extractives (sels, matières protéiques, gommes) qui accompagnent la substance active, si à une solution impure des corps précipités par l'alcool on ajoute du sulfate d'ammoniaque jusqu'à formation d'un trouble (le liquide contient alors 50 p 100 de sulfate d'ammoniaque) et qu'on abandonne le liquide à lui-même,

il s'effectue un dépôt de flocons jaunâtres qu'on lave à l'aide d'une solution de sulfate d'ammoniaque à 54 p. 100 et qu'on considère comme formée presque uniquement par la substance active. Le liquide dont on a séparé le précipité donne, par addition de sulfate d'ammoniaque jusqu'à réalisation d'une teneur de 60 p. 100, un précipité constitué par un mélange de la substance active, d'arabane et de pentose; le deuxième liquide filtré, saturé de sulfate d'ammoniaque, précipite uniquement un pentose.

Nous avons donc isolé, à un état de pureté plus ou moins grande, une substance avec laquelle nous pouvons reproduire *in vitro* la digestion de l'amidon; c'est le type d'une **diastase** et dans le cas envisagé il s'agit de l'**amylase**, car, contrairement à ce qui se passe pour les acides qui hydrolysent indifféremment toutes les substances ternaires, il y a en principe autant de diastases que de substances ternaires.

On peut de la même manière déceler l'existence d'une amylase dans tous les organes où s'opère la digestion de l'amidon; c'est le cas par exemple de nombreuses feuilles; si on dessèche des feuilles de Pois à la température ordinaire, qu'on les pulvérise, qu'on les traite par de l'eau et qu'on filtre, on constate que le liquide obtenu se comporte comme l'infusion de malt vis-à-vis de l'amidon.

Aux différentes diastases qui correspondent aux substances variées de réserve on a encore donné le nom d'enzymes ou de ferments solubles; cette dernière dénomination s'oppose à une autre notion, celle des ferments figurés, et il n'est pas inutile de préciser cette question de nomenclature. Nous verrons

par la suite que beaucoup de microorganismes sont capables, pour acquérir l'énergie qui leur est nécessaire, de décomposer, d'une manière souvent incomplète, un poids relativement considérable de matières organiques, il se produit ainsi des phénomènes auxquels on a donné le nom de fermentations, le type en est la fermentation alcoolique produite par les Levures, qui ont la propriété de décomposer le glucose en alcool et gaz carbonique, ces êtres ont reçu le nom de ferments et plus spécialement de ferments figurés, par cette désignation on oppose ainsi des cellules vivantes aux substances diastasiques que nous venons de mettre en évidence et auxquelles on réserve le nom de ferments solubles

Mais il y a lieu de faire observer qu'il y a intérêt pour la clarté à réserver le nom de ferments aux agents vivants de toute fermentation, car nous verrons qu'on a pu ramener l'œuvre de ces fermentations à des actions diastasiques, nous adopterons donc le nom de diastases pour les substances que nous venons de reconnaître comme déterminant les phénomènes de digestion chez les végétaux

b Mesure de l'intensité d'une action diastasique

Pour mettre en évidence l'existence de l'amylase dans les jus de presse des végétaux et en déterminer l'activité relative, on peut employer la méthode établie par Wohlgemuth Elle consiste à déterminer la quantité du liquide diastasique qui réalise la transformation complète en dextrines d'une certaine quantité d'amidon dans un temps donné et à une température déterminée

On introduit dans une série de tubes à essais des volumes variables du liquide à étudier (1 cm³ — 0, cm³ 5 — 0, cm³ 25 — 0, cm³ 125) et on ajoute dans chacun d'eux un nombre égal de cm³ d'une solution à 1 p 100 d'amidon ; on porte à une température de 38°-40° et on abandonne pendant une heure à cette température On porte ensuite dans de la glace et on ajoute quelques gouttes d'une solution d'iode à $\frac{N}{10}$, il apparaît alors dans les différents tubes une série de colorations différentes, bleue foncé, bleue violacée, jaune rougeâtre et jaune, dans les deux derniers cas tout l'amidon a été transformé au moins en dextrine, si le tube qui est à la limite des 2e et 3e colorations a reçu par exemple 0 cm³ 05 du liquide à étudier et 5 cm³ de la solution d'amidon, on dira que le pouvoir diastasique de 1 cm³ de ce liquide est représenté par

$$D_{38^\circ} = \frac{1}{0{,}05}\ 5 = 100$$

On peut aussi évaluer le pouvoir diastasique d'un liquide contenant de l'amylase par le pouvoir réducteur qu'il détermine vis-à-vis de la liqueur de Fehling dans une solution d'amidon, c'est ainsi que Meyer a pu comparer les pouvoirs digestifs des différents tissus du grain de Maïs, qui sont représentés par les nombres suivants, pour des poids égaux de substance fraîche

Embryon débarrassé de l'écusson	5,9
Ecusson	48,6
Albumen	5,8

On voit à nouveau combien le pouvoir diastasique du cotylédon est prédominant. Nous venons d'ac-

quérir la notion de diastase dans un cas particulier ; avant d'aborder l'étude des propriétés générales de ces diastases il convient tout d'abord d'en constater la généralité.

2. Autres diastases hydrolysantes.

a. Invertine, maltase, emulsine.

Si nous cultivons le *Sterigmatocystis nigra* sur un milieu à base de saccharose et qu'au bout de quatre jours nous soutirions le liquide pour le remplacer par de l'eau stérilisée pure, sucrée ou glycérinée, le mycélium en s'épuisant laisse filtrer une diastase très active, qui a la propriété d'intervertir le saccharose en glucose et lévulose ; cette **invertine** ou sucrase est sécrétée par de nombreux Champignons (*Aspergillus*, *Penicillium*, Levures, *Mucor racemosus*...) et comme dans le cas du *Sterigmatocystis* elle apparaît assez facilement au dehors des cellules qui l'élaborent ; son exosmose est cependant difficile dans le cas du *Monilia candida* et impossible pour certaines Levures.

On peut préparer l'invertine à l'état sec en faisant macérer de la Levure de bière dans de l'alcool absolu ; le liquide est décanté, filtré et évaporé à l'air ; la masse cassante obtenue est pulvérisée et reprise par l'eau ; après une nouvelle filtration qui arrête les cellules de levure pouvant avoir été entraînées précédemment, on ajoute de l'éther ; il apparaît alors une masse visqueuse qui se rassemble à la partie supérieure et qu'on sépare du reste du liquide ; la matière est à nouveau reprise par de l'eau, puis versée dans de l'alcool absolu où il se produit un précipité pulvéru-

lent qu'on sèche enfin dans le vide ; on obtient ainsi une substance douée d'un puissant pouvoir diastasique.

Très répandue dans le règne végétal, l'invertine existe dans les feuilles et les bourgeons, partout où se trouve du saccharose en voie d'utilisation. Si nous revenons par exemple au cas de la Betterave, considérée au cours de la seconde année de végétation, nous constatons que le jus de presse des différents organes possède un pouvoir d'inversion vis-à-vis du saccharose qui se trouve être dans un rapport direct avec la nature des sucres qu'on rencontre normalement dans ces organes ; ce pouvoir est nul dans la racine, insignifiant au collet, puis augmente progressivement lorsqu'on s'élève dans la tige et acquiert enfin son maximum au niveau de l'inflorescence ; c'est donc bien à l'invertine qu'on est en droit d'attribuer la transformation du saccharose qui émigre du tubercule.

De même au maltose correspond comme diastase la **maltase** qui en détermine le dédoublement en deux molécules de glucose ; on trouve fréquemment cette diastase chez les Champignons tels que beaucoup de Levures, mais si on essaye d'obtenir à partir d'une culture de *Botrytis cinerea* une solution de cette diastase par le procédé qui vient de nous réussir pour l'invertine on n'arrive à aucun résultat (H. COLIN), on peut par contre obtenir le dédoublement d'une solution de maltose en faisant agir sur elle du mycélium desséché et pulvérisé, et cela en présence de 1 p. 100 de fluorure de sodium qui empêche tout développement de microorganismes et celui du mycélium lui-

même, dans le cas où il ne serait pas complètement tué Nous sommes donc, avec la maltase du *Botrytis cinerea*, en présence d'une diastase qui n'apparaît pas en dehors du mycélium à la manière de l'invertine du *Sterigmatocystis nigra*, mais reste à l'intérieur des cellules qui la produisent, il s'agit d'une **endodiastase**

A ces deux allures très distinctes présentées par l'invertine du *Sterigmatocystis nigra* et la maltase du *Botrytis cinerea* correspond d'autre part une décomposition extérieure du saccharose, avec apparition de glucose et de lévulose dans le milieu de culture, alors que le glucose résultant de l'action de la maltase n'apparaît pas à l'extérieur, il ne reste jamais en dehors du mycélium que du maltose non digéré Comme pour l'invertine, l'extraction de la maltase est plus ou moins difficile suivant l'espèce végétale considérée, il est des cas où l'exosmose de la maltase est aussi facile que celle de l'invertine du *Sterigmatocystis nigra* et il est vraisemblable que ces différences correspondent à des propriétés variables des membranes cellulaires en ce qui concerne la perméabilité

Nous venons de considérer quelques exemples de diastases s'attaquant à des composés ternaires, toutes sont caractérisées par un même mode d'action, il s'agit d'un dédoublement des substances accompagné d'une fixation d'eau, elles rentrent dans la catégorie des **diastases hydrolysantes**, le fait mérite d'être signalé, car nous aurons l'occasion d'apprendre qu'il en existe d'autres dont le mode d'action est tout différent

D'une manière générale il existe autant de diastases que de substances ternaires et, sans préjuger pour

l'instant de la question de spécificité, nous pouvons établir la liste qui suit

Aux différents disaccharides, saccharose, maltose, lactose, tréhalose correspondent l'invertine, la maltase, la lactase, la tréhalase La **lactase** transforme la lactose en glucose et galactose, elle est sécrétée en particulier par la Levure du Caucase, servant à la fabrication du Kéfir, ce liquide résulte d'une double transformation du lactose du lait en acide lactique par l'intervention d'une bactérie et en alcool par la Levure en question, on rencontre également la lactase chez l'*Oidium lactis*, le *Penicillium glaucum*, l'*Eurotiopsis Gayoni*

Le cellose, disaccharide provenant de l'hydrolyse de la cellulose, est digéré de même par une diastase, la **cellase**, qui donne deux molécules de glucose Au maltase et au cellose qui aboutissent au même monosaccharide correspondent donc deux diastases différentes, la maltase n'agit pas sur le cellose, pas plus que la cellase ne dédouble le maltose, disons de suite que ce fait correspond à une constitution différente des deux disaccharides, le maltose étant un α glucoside du glucose et le cellose un β glucoside du glucose

Les trisaccharides pour être digérés nécessitent l'intervention de deux diastases successives, nous avons vu qu'on peut hydrolyser le raffinose en deux temps, par une hydrolyse faible, réalisée par l'acide acétique, le sucre en question est dédoublé en lévulose et un disaccharide, le mélibiose, ce dernier peut à son tour être dédoublé par l'acide chlorhydrique en glucose et galactose

Chez la plante, le premier dédoublement s'effectue par l'action de l'invertine, quant au mélibiose il lui correspond une diastase spéciale, la **mélibiase**, qu'on rencontre chez les Levures basses Mais il est à remarquer que la lactase agit aussi sur le raffinose mais en lui enlevant une molécule de galactose, le reste constituant du saccharose, l'action de la lactase, suivie de celle de l'invertine amène donc, par une autre voie, aux mêmes produits terminaux que l'action combinée de l'invertine et de la mélibiase

De même le gentianose se dédouble par l'invertine en lévulose et en gentiobiose qui est à son tour ramené par la **gentiobiase** à l'état de deux molécules de glucose, mais si on fait agir sur le même trisaccharide la diastase que nous allons apprendre à connaître sous le nom d'émulsine, on obtient du glucose et du saccharose, ce dernier pouvant être à son tour dédoublé par l'invertine

Nous avons signalé l'existence de l'amylase correspondant à l'amidon et nous avons dit qu'elle transformait cette substance en maltose en la faisant passer par l'état intermédiaire de dextrines, on considère généralement qu'on se trouve ici en présence de deux diastases différentes, l'une, l'amylase proprement dite, amenant l'amidon à l'état de dextrines, l'autre, une **dextrinase**, transformant les dextrines en maltose Le liquide diastasique préparé à partir de grains de Maïs germés amène l'amidon à l'état de glucose et on est conduit à y reconnaître un mélange d'amylase, de dextrinase et de maltase, mélange qu'on désigne souvent sous le nom d'amylomaltase D'autre part le fait que l'amidon n'est pas une substance simple,

mais qu'il nous est apparu comme constitué par une amylopectine et une amylose pose également la question de savoir si l'amylase proprement dite elle-même n'est pas à son tour un mélange de plusieurs diastases.

A l'inuline correspond de même l'**inulase**, aux hémicelluloses la **séminase** amenant la formation de mannose et de galactose. Cette séminase a surtout été étudiée pour les graines de certaines Légumineuses (le Caroubier par exemple), la caroubinase d'EFFRONT n'est autre chose qu'une séminase ; BOURQUELOT et HERISSEY ont d'ailleurs montré qu'il existe différentes séminases pour les diverses familles de plantes ; c'est ainsi que la séminase du Caroubier est capable de digérer les réserves hémicellulosiques des autres Légumineuses et celle des Orchidées (Salep), mais n'a aucune action sur celle des Palmiers. Cependant si on vient à faire digérer pendant vingt-quatre heures des graines pulvérisées de *Phytelephas* dans de l'acide sulfurique à 60 p. 100, qu'on neutralise et lave ensuite avec soin, le produit ainsi obtenu est hydrolysé par la séminase des Légumineuses ; on a ramené l'hémicellulose de réserve du Phytelephas à un moindre degré de polymérisation, de l'ordre de celui qui correspond aux réserves des Légumineuses.

La **pectase** est une diastase assez particulière ; elle agit sur la pectine dont elle détermine la coagulation et la transformation en pectates ; on la qualifie de diastase coagulante ou coagulase. Si on extrait de la pectine des tubercules de Carotte ou de Betterave et qu'on laisse agir la pectase obtenue par compression de la pulpe des Carottes jeunes, on observe une géla-

tinisation du liquide et la formation d'une substance réductrice Cette pectase est très répandue dans le règne végétal et peut s'observer dans les tiges, les feuilles et les fleurs de plantes variées, on évalue le pouvoir diastasique des sucs cellulaires vis-à-vis des composés pectiques en mesurant le temps au bout duquel un volume de ce suc ajouté à un volume d'une solution de pectine à 20 p 100 en détermine la gélatinisation , on obtient par exemple les résultats suivants (BERTRAND et MALLÈVRE)

Trèfle	10 min
Carotte	2 hs
Vigne	24 hs
Tomate	48 hs

Aux celluloses correspondent des cellulases ou **cytases** capables de les hydrolyser , les parois des membranes cellulaires sont plus ou moins digérées pendant la germination des graines et cette digestion des celluloses est souvent réalisée d'une manière encore plus intense par des microorganismes

Un grand nombre de glucosides tels que la salicine, l'arbutine, la coniférine, l'esculine, sont dédoublés par une diastase spéciale, l'**émulsine**, dont l'étude a tout d'abord été faite à partir des graines d'amandier , nous verrons que les amandes amères contiennent un glucoside azoté, l'amygdaline, qui se dédouble en présence d'eau et d'émulsine en glucose, aldéhyde benzoique et acide cyanhydrique, on utilise d'autre part le fait que les amandes douces ne contiennent pas d'amygdaline, mais seulement l'émulsine, pour préparer à partir d'elles cette diastase qu'on retrouve d'ailleurs fréquemment dans le règne végétal et en particulier chez les Champignons

b Methode biochimique de recherche des glucosides

Bourquelot a utilisé le phénomène d'hydrolyse des glucosides par l'émulsine pour rechercher ces substances chez les végétaux, la méthode est basée sur le fait que les glucosides hydrolysés par l'émulsine sont lévogyres, ne sont pas réducteurs ou très peu, et que dans leur dédoublement le seul produit qui agisse sur la lumière polarisée se trouve être le glucose

Prenons par exemple 200 grammes d'un organe frais dans lequel on cherche à déceler l'existence d'un glucoside, découpons-le en morceaux et projetons ceux-ci dans de l'alcool fort porté à l'ébullition, on détruit ainsi toutes les diastases, on distille la solution alcoolique sous pression réduite, on reprend par de l'eau thymolée et on amène à 200 centimètres cubes, on évalue alors la rotation, on ajoute l'émulsine et on abandonne à la température ordinaire Au bout de quelques jours, on procède à un nouvel examen polarimétrique, si on observe une déviation vers la droite on peut être certain qu'il s'est produit une hydrolyse d'un glucoside, il ne reste plus qu'à l'isoler, cette méthode, qui peut d'ailleurs être combinée à la recherche du saccharose par l'invertine, a été très féconde et a permis la découverte d'un très grand nombre de glucosides nouveaux

Prenons un exemple concret quelconque, il s'agit d'un des derniers glucosides isolés par la méthode en question (Bourquelot et Bridel) Traitons comme il vient d'être indiqué 200 grammes de racine de *Scabiosa succisa*, la solution aqueuse thymolée amenée

à 200 centimètres cubes présente les caractéristiques suivantes

Rotation ($l = 1$ dm)	— 1° 17
Réducteur pour 100 cm³	0 gr 463

Après l'action de l'invertine on a

Rotation	— 3° 36
Déviation nouvelle	— 2° 19'
Réducteur pour 100 cm³	2 gr 460
Réducteur formé	1 gr 997

Il y avait donc du saccharose dans la racine de *Scabiosa* et les données acquises permettent d'en évaluer le taux Faisons agir ensuite l'émulsine, les nombres deviennent

Rotation	— 17
Déviation nouvelle	+ 3° 19'
Réducteur pour 100 cm³	3 gr 192
Glucose produit	0 gr 732

Il existe donc dans les racines de *Scabiosa succisa* un glucoside dont nous connaissons la proportion, il a pu être isolé et caractérisé, c'est la scabiosine

Aux tannins glucosidiques correspond de même une diastase spéciale, la tannase

c Lipase

C'est encore par un phénomène diastasique que s'opère dans la plante la digestion des huiles, chimiquement la saponification s'opère absolument dans les mêmes conditions que sous l'action des acides, c'est-à-dire que les huiles donnent naissance, par hydratation, à de la glycérine et à un ou plusieurs acides gras

On a d'abord montré (Green) que des graines de Ricin germés pendant environ six jours et broyées

augmentent l'acidité d'huile qui est mise à leur contact, on peut ainsi, à condition de rendre le milieu suffisamment acide, réaliser le dédoublement de 85 p. 100 de l'huile.

L'extraction de la diastase qui intervient ici, la lipase ou saponase, et qui a été réalisée par NICLOUX, montre qu'il s'agit d'une substance dont les propriétés physiques sont assez particulières. Si on dégraisse des graines de Ricin par l'éther, qu'on épuise la masse solide obtenue par de l'eau pure ou de l'eau salée, on constate que le liquide filtré, pas plus d'ailleurs que le résidu de l'épuisement, n'a d'action sur l'huile; la diastase n'est donc pas soluble dans l'eau ou elle perd ses propriétés au contact de ce liquide.

Mais broyons des graines de Ricin germées en présence d'huile, filtrons sur de la toile et centrifugeons, on obtient deux couches dans le liquide, une couche inférieure blanchâtre est constituée par des membranes cellulaires et des grains d'aleurone, la couche supérieure grisâtre est presque uniquement formée par du cytoplasme, on la décante et on la débarrasse de l'huile par un solvant, après une nouvelle centrifugation on obtient une masse qui peut être desséchée et à l'aide de laquelle il est possible de réaliser la digestion des huiles.

Si cette substance diastasique vient à être traitée par de l'eau pure, de l'eau acétique ou de l'eau salée, elle devient par contre complètement inactive; la lipase obtenue est donc à la fois insoluble dans l'eau et détruite par ce liquide. On arrive à la même notion en montrant que si on mélange le cytoplasme sec à de l'huile, puis à de l'eau acidulée il s'opère une saponi-

fication et qu'on n'observe au contraire aucune digestion, quand le même mélange est réalisé en ajoutant d'abord de l'eau acidulée, puis de l'huile

On rencontre la lipase dans un grand nombre de Moisissures (*Aspergillus fumigatus*, *A glaucus*) et des Bactéries (*Bac pyocyaneus*, *Bac fluorescens*, *Micrococcus prodigiosus*)

3 Réactifs des diastases

On reconnaît l'existence et la nature des différentes diastases d'après les produits de transformation des substances sur lesquelles elles agissent Mais quand il s'agit de liquides diastasiques complexes on peut employer des méthodes particulières qui permettent de caractériser rapidement les diastases qu'ils contiennent

L'une de ces méthodes est due à Beijerinck, elle consiste à utiliser des milieux gélatinés, contenant d'une part les sels minéraux et un aliment azoté nécessaires au développement de microorganismes, d'autre part un sucre déterminé, à ce milieu on mélange entièrement une Levure incapable d'utiliser le sucre à essayer, on ajoute ensuite un peu du liquide diastasique à étudier, si celui-ci agit sur le sucre le milieu gélatiné se troublera du fait du développement de la levûre, rendu possible par la digestion de l'hydrate de carbone

La méthode imaginée par Gruss consiste essentiellement à établir par capillarité un champ de diffusion des diastases sécrétées par des cellules végétales, on se sert de papiers filtres tendus sur des cercles métalliques, après les avoir humectés d'eau on place en leur

centre des cellules telles que des levures broyées, les substances sécrétées, les diastases en particulier, vont diffuser à des distances d'ailleurs variables, on enlève alors les cellules et on applique sur le papier filtre des secteurs de papier semblable, mais imbibés de divers réactifs, supposons par exemple qu'il s'agisse de papier contenant de l'amidon soluble et de l'iodure de potassium, si de l'amylase a diffusé on obtiendra au bout d'un certain temps une coloration bleue du secteur appliqué, sauf dans la région où l'amidon a été digérée par l'amylase

En résumé les phénomènes de digestion des substances ternaires sont l'œuvre de substances cellulaires spéciales, les diastases, capables d'agir *in vitro*, en dehors des cellules qui les ont produites, c'est un premier exemple de phénomène présenté par les êtres vivants qui se trouve ramené à une réaction d'ordre physicochimique, nous verrons que ce n'est pas le seul

4 Propriétés générales des diastases

a Propriétés physiques et chimiques

Toutes les substances que nous venons de considérer sont des colloïdes ; elles ne dialysent pas ou seulement très lentement, elles sont souvent solubles dans l'eau et la glycérine, mais lorsqu'on fait passer leur solution à travers un filtre leur action est très affaiblie ou devient tout à fait nulle, comme toutes les matières colloïdales elles présentent la propriété du transport

électrique, elles apparaissent à l'état de granules visibles à l'ultramicroscope, présentant un diamètre de $\frac{1}{10}$ à $\frac{1}{100}$ µ.

Les diastases sont précipitées de leurs solutions par les électrolytes, comme nous l'avons constaté en ce qui concerne le sulfate d'ammoniaque dans le cas de l'amylase ; il se produit entre la diastase et les sels un phénomène d'adsorption ; on peut précipiter les diastases par le phosphate de calcium produit par l'action du phosphate de sodium dilué en présence d'un sel de calcium, de même par le carbonate de calcium, l'alumine hydratée, etc. ; nous avons dit que l'alcool les précipite également, mais cette substance détruit assez rapidement la plupart des diastases et, pour les obtenir à un état actif, il est nécessaire que le traitement par l'alcool soit aussi court que possible.

La composition chimique des diastases est assez incertaine, étant donné qu'on n'est jamais sûr d'être en présence d'une substance pure, bien définie ; le carbone, l'oxygène, l'hydrogène, l'azote et souvent le soufre entrent dans leur composition qui paraît être celle des matières protéiques ; elles présentent d'ailleurs les réactions des substances protéiques : réactions de Millon, du biuret, xanthoprotéique, et leur taux d'azote est souvent voisin de celui des albuminoïdes. Mais toutes les tentatives d'établissement d'une formule exacte des diastases n'ont conduit qu'à des résultats variables suivant les procédés qui sont employés pour les précipiter et les purifier à des degrés variés. C'est ainsi que pour l'amylase et l'invertine plu-

sieurs auteurs ont donné les compositions élémentaires suivantes qui diffèrent sensiblement entre elles :

	Carbone	Hydrogene	Azote	Soufre	Cendres
Amylase	45,68	6,9	4,57	o	0,08
	47,57	6,49	5,14	»	3,16
	46,66	7,35	10,41	»	4,79
Invertine	43,90	8,4	6	0,63	»
	40,50	6,9	9,3	»	»

la composition de l'albumine du blanc d'œuf étant

37,5	7,1	15,8	»	1,8

Nous verrons du reste qu'une purification des diastases poussée trop loin diminue beaucoup ou arrive même à annuler complètement leurs propriétés caractéristiques, nous ne pouvons donc définir les diastases que par leur action, aussi certains auteurs, tels qu'ARTHUS, se sont demandé si les diastases existaient bien en tant que substances chimiques définies et si on ne se trouvait pas plus plutôt en présence de propriétés physiques particulières de certains composés Nous verrons d'ailleurs qu'il peut exister des diastases qui présentent une composition très différente de celles des substances protéiques

Nous avons déjà vu que certaines diastases sont facilement exosmosées par les cellules qui les produisent, l'eau pure ou glycérinée extrait ainsi l'invertine des Levures et d'autres Champignons, dans d'autres cas, il est nécessaire d'exercer sur les cellules une pression considérable, après avoir déchiré les cellules en les broyant en présence de sable Beaucoup de diastases sont abandonnées par les cellules lorsque la perméabi-

lité de la membrane est accrue par diverses substances, le chloroforme, l'éther, le toluène etc Signalons enfin le procédé proposé par PALLADINE et qui consiste à tuer les cellules par une température très basse et à les ramener ensuite à la température ordinaire, le dégel détermine l'exosmose des diastases

Les diastases sont influencées et leur action dépend d'un certain nombre de facteurs dont les principaux sont la température et les substances chimiques qui peuvent se trouver dans le solvant

b Action de la temperature

Lorsqu'on chauffe une solution diastasique à 100° pendant quelques minutes, on constate après refroidissement qu'elle a perdu tout pouvoir digestif, la température mortelle est variable avec les différentes diastases et de plus elle est fonction de la durée pendant laquelle elle s'exerce, au-dessus de 30° toute température semble déjà nuisible si l'action en est prolongée pendant un temps suffisamment long, la résistance des liquides diastasiques à la chaleur dépend enfin de leur dilution et des impuretés qui augmentent cette résistance, enfin les diastases desséchées résistent beaucoup mieux qu'à l'état de solution, quand leur dessiccation est complète elles peuvent être portées à 100° sans perdre leur action Il existe de grands écarts entre les températures mortelles des différentes diastases qui sont, par exemple, de 45° pour la méthylglucase, de 81° pour la myrosine, elles oscillent le plus souvent entre 60° et 70°

Les diastases résistent bien au contraire à des tem

pératures très basses, une température de — 190° réalisée par l'air liquide n'altère pas sensiblement les diastases.

La température influe d'autre part sur les phénomènes d'hydrolyse provoqués par les diastases, la vitesse de la réaction de l'invertine est, par exemple, représentée aux différentes températures par les nombres qui suivent :

Température	Vitesse de la réaction
0°	6
20°	25
30°	40
40°	70
50	100
60°	70
65°	7
70°	0

On voit que la vitesse de réaction, faible à 0°, augmente rapidement avec la température, qu'elle passe par un maximum vers 50°, puis diminue pour s'annuler à 70°. Cette allure est la résultante de deux effets inverses de la température qui augmente d'une manière continue la vitesse de la réaction, mais qui agit d'autre part d'une manière défavorable sur la diastase elle-même.

On obtient des résultats identiques avec l'amylase dont l'action est maxima vers 60° alors qu'à 70° la quantité de sucre formée est insignifiante ; du reste pour des températures comprises entre 60° et 70° l'action diastasique est modifiée en ce qui concerne les proportions de dextrine et de maltose formés ; c'est ce que montrent les résultats suivants, relatifs à de l'empois d'amidon sur lequel on fait agir une même solu-

tion de malt maintenue pendant dix minutes à des températures différentes

Température	Maltose 0/0	Dextrine 0/0
63°	63	37
68°	35	65
70°	17,4	82,6

L'une des hypothèses permettant d'expliquer ces faits consisterait à admettre l'existence de plusieurs diastases auxquelles correspondraient des températures mortelles différentes et se comportant de manière variée sur l'amidon, à 68° par exemple on détruirait les amylases donnant peu de dextrine, mais beaucoup de maltose, nous touchons ici au problème de la spécificité des diastases dont nous dirons quelques mots plus loin

La lumière a sur les diastases une action destructive analogue à celle qu'exercent les températures relativement élevées, ce sont principalement les radiations violettes et ultra-violettes qui interviennent, et leur action est surtout importante quand aux solutions diastasiques on ajoute des matières fluorescentes, telle que l'éosine, qui se comportent comme des sensibilisateurs

c Actions des agents chimiques

Parmi ces facteurs, la réaction présentée par le milieu a une grande influence, les ions H^+ et OH^- des acides et des bases agissent d'ailleurs différemment sur les diverses diastases Si nous ajoutons à 100 grammes d'empois d'amidon additionné d'amylase les doses suivantes d'acide sulfurique, on constate qu'au bout

du même temps les quantités de sucre formées varient dans de grandes proportions.

Acide sulfurique (mg)	Sucre formé
0	0,44
1	0,47
2	0,49
2,5	0,48
3	0,43
3,5	0,27
4	0,13
6	0,02
10	0,01

Des doses très faibles d'acides agissent favorablement, une certaine dose se montre indifférente et des proportions plus fortes ralentissent, puis arrêtent l'hydrolyse. Il en est de même pour l'invertine, la lactase, l'inulase, la lipase du ricin.

La réaction alcaline est au contraire très peu favorable aux actions exercées par les diastases végétales correspondant aux substances ternaires ; il y a déjà une diminution de 20 p. 100 dans l'action diastasique de l'amylase quand on ajoute à 100 grammes d'empois d'amidon neutre 5 mg de carbonate neutre de sodium ; elle est de 75 p. 100 lorsqu'on ajoute 0 mg 25 de soude.

Il nous suffira de montrer, par les résultats suivants obtenus par Fernbach, la sensibilité de l'action de l'invertine du *Sterigmatocystis nigra* à la réaction alcaline du milieu ; dans 8 tubes à essais il était introduit 2 centimètres cubes d'une solution d'invertine, il y était ajouté des doses croissantes de soude au $\frac{1}{15000}$ et le volume était amené uniformément à 10 centimètres

cubes par addition d'eau sucrée. Au bout d'une heure à 56° les quantités de sucre interverti étaient celles qui sont portées dans le tableau ci-dessous :

Quantité de soude ajoutée (cm^3)	Quantité de réducteur formé (mg)
0	35
0,5	31
1	25
1,5	17
2	12
2,5	7
3	5
3,4	3

Les liquides des 4 premiers tubes étaient encore acides du fait d'une petite quantité d'acide oxalique exosmosé par le *Sterigmatocystis nigra*, ceux des tubes 5, 6 et 7 étaient neutres, ce n'est que dans le 8e et dernier tube qu'on pouvait constater une légère réaction alcaline. On obtient dans le tube 4 une réduction de 50 p. 100 pour la quantité de sucre interverti produit et cela par l'addition d'une quantité de soude équivalente à 1 gramme par hectolitre.

L'action des acides dans les phénomènes diastasiques est fonction de leur dissociation et ce sont les ions H qui se trouvent intervenir, SORENSEN a précisé cette notion et établi des méthodes permettant une mesure précise de la concentration en ions H des diverses solutions, avant d'en indiquer le principe rappelons tout d'abord la notation employée par SORENSEN pour exprimer la concentration d'un liquide en ions H.

Supposons qu'on considère le cas de l'eau pure, il y existe $\frac{1}{10^7}$ g d'ions H par litre, on remplace cette

valeur par la puissance de 10 dans le dénominateur de cette fraction et on désigne cet exposant par le symbole *p*H, on a donc pour l'eau *p*H = 7, on voit que *p*H décroît lorsque les ions augmentent, c'est-à-dire lorsque l'acidité active augmente, lorsque *p*H est supérieur à 7 on a affaire à une réaction alcaline et d'autant plus intense que *p*H est plus grand

On peut déterminer la valeur exacte de *p*H par une méthode électrométrique, mais pour les recherches biologiques il est commode d'avoir recours à un procédé colorimétrique qui donne le plus souvent des renseignements suffisants sur la réaction des milieux On prépare à cet effet des solutions étalons de différents indicateurs virant pour des valeurs différentes et connues de *p*H, c'est ainsi qu'avec l'hélianthine on peut évaluer des valeurs de *p*H comprises entre 3,1 et 4,4, avec le rouge neutre des valeurs intermédiaires entre 6,8 et 8, avec la phénophtaléine des valeurs allant de 8,3 à 9,2 etc

Les ions H+, et pour d'autres diastases que nous étudierons ailleurs les ions OH−, sont probablement assimilables aux substances qu'on appelle les *codiastases* et dont la présence est nécessaire à l'action de certaines diastases, comme nous en verrons un exemple particulièrement net pour les oxydases, tantôt on suppose qu'il sagit de corps qui activent les diastases, tantôt on admet qu'ils sensibilisent la substance transformée C'est de la même manière que s'expliquerait l'action de certains sels activant les digestions diastasiques, par exemple les sels de calcium, d'aluminium, les phosphates ou même d'autres substances telles que l'asparagine et les matières protéiques Les nombres qui

suivent, obtenus par EFFRONT, se rapportent aux quantités de maltose produit par un même extrait de malt, dans les mêmes conditions de température, mais suivant qu'il est employé tel quel ou additionné de différentes substances minérales

Extrait seul	8,63
0,5 o/o Phosphate de calcium	46,1[illegible]
0,[illegible] o/o Alun d'ammoniaque	56,30
0,[illegible] o/o Acétate d'ammoniaque	6[illegible],40
0,05 o/o Asparagine	61,20

Parmi les diastases que nous avons envisagées il en est une, la pectase, pour laquelle l'existence d'un coferment apparaît déjà d'une manière frappante, nous avons dit qu'il s'agit d'une diastase qui possède la propriété de coaguler les composés pectiques tels que la pectine, il est aisé de montrer qu'elle ne peut exercer son action en l'absence d'un sel de calcium BERTRAND et MALLÈVRE ont montré que le jus de carotte coagule rapidement la pectine, mais cette action n'apparaît plus quand le jus de carotte a été débarrassé de toute trace de calcium par l'acide oxalique, elle se produit à nouveau quand on réintroduit une certaine quantité de composé calcique soluble Le calcium apparaît donc ici comme aussi nécessaire à l'action diastasique que la diastase elle-même, il s'agit d'une codiastase et, comme pour les acides, on peut admettre soit que les ions sont adsorbés par la pectine qu'ils sensibilisent, soit qu'ils sont adsorbés par la pectase qu'ils activent

Par contre différentes substances, le bichlorure de mercure, les sels de plomb, de zinc, de fer, l'alcool, différents antiseptiques organiques, le phénol, l'acide salicylique, paralysent ordinairement les actions diastasiques.

Mais il n'y a pas forcément parallélisme entre l'action des antiseptiques sur les diastases et celle qu'ils exercent sur le développement des microorganismes ; le sublimé, qui tue les cellules à la dose de 0,0000 5 p. 100, n'arrête l'action de l'amylase qu'à la dose de 0,01 p. 100. De même le toluène empêche les bactéries de se développer dans un liquide, sans modifier l'action des diastases dans un sens ou dans un autre ; il en est de même de certaines essences, celle de moutarde par exemple. De telles substances sont par suite employées pour maintenir stériles les liquides organiques servant à l'étude des actions diastasiques, car on ne peut dans ce cas obtenir la stérilité par la chaleur qui tue les diastases, ni par la filtration qui les retient ; nous avons déjà utilisé à cet effet le fluorure de sodium à 1 p. 100 et on peut de la même manière s'adresser au chloroforme.

On peut donc par ce procédé séparer les actions diastasiques d'un végétal des fonctions de croissance ; si on introduit de la Levure de bière dans une solution de saccharose et qu'on ajoute du chloroforme, il ne se manifeste aucun développement, mais l'inversion du sucre de canne s'effectue. D'ailleurs la sensibilité des diverses diastases aux réactifs de cette catégorie est essentiellement variable avec la nature spécifique des diastases ; c'est ainsi qu'en présence de chloroforme la Levure de bière intervertit le saccharose, mais qu'il ne se produit pas de fermentation alcoolique, bien qu'il s'agisse encore, nous le verrons, d'un phénomène diastasique.

5. Spécificité des diastases

Avant d'aborder l'étude sommaire des lois qui régissent les actions diastasiques, revenons sur une question que nous avons déjà soulevée chemin faisant, celle de la spécificité des diastases. Nous avons dit que les réactions produites par les diastases peuvent l'être par des agents chimiques, par exemple les acides minéraux étendus; or lorsqu'un acide détermine une de ces réactions il est capable de les produire toutes; en est-il de même des diastases ou y a-t-il au contraire autant de diastases que de substances à dédoubler ?

Nous avons admis dans ce qui précède qu'à chacun des sucres correspond le plus souvent une diastase spéciale, incapable de transformer d'autres substances que celle qui nous a servi à caractériser son action; l'invertine agit sur le saccharose et pas sur le maltose, la maltase agit sur le maltose et pas sur le saccharose; mais nous avons signalé d'autre part que l'émulsine dédouble de nombreux glucosides; il en est de même pour la lipase en ce qui concerne les huiles et nous verrons que les diastases protéolytiques digèrent un très grand nombre de matières protéiques. La question qui se pose est donc de savoir si le nombre des diastases est aussi considérable que le nombre des substances susceptibles d'être dédoublées ou s'il n'existe qu'un nombre relativement restreint de diastases types, en relation non plus seulement avec une substance déterminée, mais avec toute une catégorie de substances apparentées par leur structure chimique.

Dans la pratique le problème se pose dans les con-

ditions suivantes : étant donné un macéré ou un jus de presse capable d'agir sur divers corps hydrolysables, quel est le nombre de diastases distinctes ? Si nous reprenons par exemple l'infusion de malt nous pouvons constater qu'elle agit non seulement sur l'amidon, mais aussi sur la cellulose, sur les matières pectiques, sommes-nous en présence d'une unique substance active ou d'un mélange de diastases différentes ?

Pour résoudre un tel problème on a à sa disposition un certain nombre de méthodes qui consistent essentiellement soit à atténuer ou à faire disparaître, soit à exalter au contraire, par un réactif physique ou chimique, l'activité du liquide à l'égard de l'une ou de l'autre des substances qu'il est capable de dédoubler. Si, sous l'intervention de ce réactif, l'action hydrolysante du liquide varie dans le même sens ou dans des sens opposés, on conclura que les diastases correspondantes sont identiques ou différentes.

Quelles sont ces méthodes ? Une première, dite de *destruction partielle*, consiste à anéantir les propriétés actives d'un liquide vis-à-vis d'une substance, en respectant son action sur les autres ; on en conclut que le réactif a détruit la diastase correspondante, sans agir sur les autres. C'est surtout à la température qu'on s'adresse pour opérer cette destruction partielle. En élevant progressivement la température d'un liquide diastasique on voit que ses propriétés disparaissent successivement et on peut établir une échelle des températures fatales. Lorsque les températures mortelles sont assez éloignées il y a chance pour qu'on soit en présence de diastases distinctes ; mais le plus souvent l'écart n'est que de quelques degrés ; la température mortelle pour

une diastase rend l'action d'une autre à peine sensible et il est difficile de conclure

On a employé de même l'action de la lumière, en laissant simplement vieillir un liquide diastasique on peut aussi constater la disparition de quelques unes de ses propriétés alors que d'autres subsistent plus longtemps

Certaines substances chimiques peuvent également être employées, c'est ainsi que l'extrait d'amandes amères, en milieu trop acétique, perd son action sur le lactose mais hydrolyse encore l'amygdaline, de même la maltase est entravée dans son action par une dose de chloroforme qui ne gêne en rien l'invertine

L'objection la plus sérieuse que l'on puisse formuler contre cette méthode, c'est qu'il n'est pas évident, si on est en présence d une diastase unique D agissant sur deux corps C et C', que les deux systèmes de réaction D + C et D + C' soient influencés de la même manière par un facteur tel que la température, il se pourrait qu'on étudiât ainsi l'action de ce facteur sur les différents systèmes et non sur différentes diastases

Une seconde méthode, dite de *comparaison,* permet également de dissocier les actions diastasiques relatives à plusieurs substances et de les rapporter à des diastases distinctes Supposons qu'un liquide agisse sur deux corps A et B, si on peut en trouver un autre qui agisse seulement sur A, et un autre sur B, on conclut qu'il existait dans le premier liquide deux diastases qui apparaissent comme tantôt associées, tantôt isolées.

C'est ainsi que le liquide de culture du *Sterigmatocystis nigra* contient de l'invertine et de l'amy-

lase, le *Penicillium Duclauxi* ne fournit que de l'invertine

De même l'extrait d'amandes amères hydrolyse le lactose et l'amygdaline, la levure du Caucase agit sur le lactose et nullement sur les glucosides, inversement le liquide du *Sterigmatocystis nigra* attaque l amygdaline et respecte le lactose, on est donc en présence de deux ferments distincts dans l'extrait d amandes amères

Le reproche qu'on peut adresser à cette méthode est qu'on fait intervenir des liquides d'origine variée, il peut arriver, et il arrive, qu'une même diastase offre des divergences assez accentuées, à côté de son caractère essentiel constant, selon la source dont elle provient, elle peut par exemple se comporter différemment vis-à-vis de la température, des antiseptiques, la dose de prédilection d'acide ou d'alcali peut également varier La méthode de comparaison conduit par suite presque toujours à la multiplication du nombre des diastases

Enfin on a eu recours à des méthodes de *séparation*, par lesquelles on cherche, non pas à isoler complètement les propriétés diastasiques, mais du moins à faire apparaître entre elles des différences suffisantes pour qu'on puisse les rapporter à des diastases distinctes

On y arrive par la filtration, la dialyse, le pouvoir absorbant de certaines substances, l'entraînement par des précipités Les diastases sont arrêtées à des degrés très variables par une paroi filtrante telle qu'une bougie de porcelaine poreuse, alors même qu'elles sont contenues dans un même liquide actif Le pou-

voir filtrant est d'autre part influencé de manière très variable par l'acidité ou l'alcalinité du milieu

On peut encore s'appuyer sur les différences de solubilité ou de diffusibilité que présentent les diverses diastases, nous en avons vu un exemple en ce qui concerne l'invertine et la maltase des filaments mycéliens de *Botrytis* De même en faisant agir longtemps sur de la Levûre de bière de l'eau éthérée, on obtient une liqueur agissant sur le saccharose et le maltose, si on opère un contact très court avec de l'eau, l'invertine passe seule, la maltase restant dans les cellules La méthode n'est évidemment valable que pour une même espèce végétale, la perméabilité des membranes pouvant varier beaucoup d'une espèce à l'autre, comme nous l'avons déjà constaté

Bridel et Arnold ont constaté d'une manière analogue que l'émulsine préparée à partir des amandes, émulsine qui agit non seulement sur les glucosides β, mais aussi sur le lactose, le gentiobose, le cellose, le mélibiose, le manninotriose, les galactosides β et le saccharose, présentait une atténuation de certaines de ses propriétés lorsqu'on prolongeait le contact de la diastase fraîchement précipitée avec le liquide dans lequel s'effectue la précipitation, c'est ainsi que l'émulsine précipitée par l'alcool méthylique et laissée assez longtemps en contact avec ce réactif garde son activité normale vis-à-vis des glucosides β, mais agit d'une façon très amoindrie sur le lactose et le saccharose, l'alcool méthylique n'agit pas sur la glucosidase β, mais altère la lactase et l'invertine

Les résultats fournis par ces différentes méthodes conduisent actuellement à faire admettre l'existence

de diastases parfaitement distinctes, mais capables d'agir sur des corps de composition voisine, c'est ainsi que l'invertine agit sur le saccharose, mais détermine aussi le dédoublement partiel du raffinose (hydrolyse simple), du gentianose et du stachyose, dans tous les cas il s'agit du décrochement d'une molécule de lévulose, de même l'émulsine agissant sur des glucosides variés, mais étant tous des β glucosides du glucose, leur enlève une molécule de glucose, la maltase agit de son côté sur les α glucosides

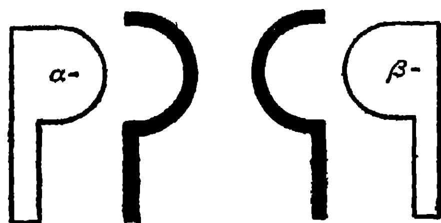


Fig 16 — Schema représentant l'adaptation des diastases à la structure stéréochimique des substances qu'elles decomposent La maltase n'hydrolyse que les glucosides α l'emulsine les glucosides β

du glucose et nous arrivons ainsi à la notion d'une relation entre les diastases et la structure stéréochimique des substances sur lesquelles elles agissent, c'est cette notion qu'a exprimée Fischer en comparant les diastases à des clés qui s'adaptent à des serrures déterminées C'est ce qu'exprime le schéma de la figure 16 où on voit que l'émulsine ne peut entrer en contact qu'avec les glucosides β et la maltase seulement avec les glucosides α, étant toutes deux symé-

triques l'une par rapport à l'autre, comme le sont les glucosides eux-mêmes

Admettant une individualité relative des diastases nous sommes conduits à regarder les cellules végétales comme capables de produire simultanément un grand nombre de ces substances, c'est ainsi que l'*Eurotiopsis Gayoni* hydrolyse à la fois l'amidon, le saccharose, le maltose, le lactose, le tréhalose, l'amygdaline, la coniférine, la salicine et les corps gras, sans parler de certaines matières protéiques telles que la caséine (LABORDE)

On avait pensé que la production d'une diastase était peut-être déterminée par la présence même du corps à dédoubler qui lui correspond, c'est une idée séduisante qu'il faut abandonner, si nous cultivons par exemple le *Botrytis cinerea* sur un liquide à base de glucose ou de lévulose, sucres directement assimilables, on voit se produire les mêmes diastases qu'en présence de disaccharides, et ces diastases, produites nécessairement par les cellules mycéliennes, apparaissent encore de la même manière que le Champignon soit cultivé sur du saccharose, du maltose ou du lactose (COLIN) Il n'y a donc pas adaptation de la cellule à la nature de l'aliment offert, mais on se trouve en présence de propriétés spécifiques et fatales de la plante

CHAPITRE III

MÉCANISMES DES ACTIONS DIASTASIQUES

La simplification des substances ternaires qui s'opère sous l'action des diastases est entièrement comparable, nous l'avons vu, à celle qui est réalisée dans le laboratoire sous l'action des acides étendus à chaud , les produits de transformation sont exactement les mêmes , mais une première différence réside en ce qu'un acide quelconque, tel que l'acide chlorhydrique, réalise l'hydrolyse de toutes les substances sucrées, alors que la digestion qui s'opère dans les végétaux correspond, pour les différentes substances ou les différents groupes de substances, à des diastases spéciales, en second lieu, les diastases se trouvent déterminer à la température ordinaire des réactions que les acides ne produisent d'une manière notable que vers 100°.

1. Catalyse

Les deux sortes d'agents de l'hydrolyse des substances ternaires interviennent d'ailleurs d'une manière identique et, dans les deux cas, il s'agit de réactions particulières qu'on qualifie de catalytiques et qui sont caractérisées par le fait que le corps qui les détermine reste absolument inaltéré on ne disparaît que dans

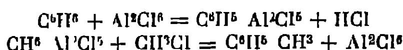
une proportion infime par rapport à la masse des substances dont ils se trouvent provoquer la décomposition

Le nombre des réactions catalytiques connues est considérable ; rappelons-en simplement quelques exemples L'eau oxygénée, stable à la température ordinaire si elle est pure, se décompose rapidement en eau et oxygène quand on la met en contact avec de la mousse de platine La même décomposition est réalisée par le platine colloïdal, consistant en une suspension dans l'eau de très fines particules de métal, de dimensions ultramicroscopiques ; on l'obtient par des décharges électriques entre deux électrodes de platine immergées dans de l'eau Il suffit d'une teneur de 3×10^{-8} g de platine dans un centimètre cube d'eau pour observer une action catalytique appréciable (Bredig) D'autre part, la décomposition de l'eau oxygénée se trouve arrêtée, tout comme une réaction diastasique, par de petites quantités de certaines substances telles que l'acide sulfhydrique, le sulfure de carbone, l'acide cyanhydrique

On sait aussi que le bioxyde de manganèse, ajouté au chlorate de potassium, facilite beaucoup la décomposition de ce sel en chlorure de potassium et oxygène On connaît également le rôle important qu'a joué dans les recherches de chimie organique, comme catalyseur, le chlorure d'aluminium

La benzine C^6H^6 et le chlorure de méthyle CH^3Cl sont sans action l'un sur l'autre dans les conditions ordinaires ; mais vient-on à ajouter à leur mélange du chlorure d'aluminium, il se forme du toluène C^6H^5-CH^3 et de l'acide chlorhydrique ; on admet qu'il se

forme un corps intermédiaire C^6H^5-Al^2Cl^5 qui permet la réaction que nous venons de signaler



$$C^6H^6 + Al^2Cl^6 = C^6H^5\ Al^2Cl^5 + HCl$$
$$C^6H^5\ Al^2Cl^5 + CH^3Cl = C^6H^5\ CH^3 + Al^2Cl^6$$

Dans tous les cas, les substances ajoutées ont pour propriété d'abaisser sensiblement la température à laquelle la réaction qu'ils provoquent aurait lieu sans leur intervention. C'est de la même manière que l'oxyde de carbone donne à 350°, en présence de nickel, du gaz carbonique et du carbone, réaction qui ne se produit qu'à une température sensiblement supérieure à 1000° en l'absence de nickel.

Il en va de même en ce qui concerne l'action de l'acide chlorhydrique ou sulfurique sur une solution de saccharose ; la transformation du sucre en glucose et lévulose, qui s'effectue avec une infinie lenteur à la température ordinaire en solution aqueuse, beaucoup plus rapidement en présence d'eau pure à 100°, est accélérée dans de très fortes proportions à 100° lorsqu'on ajoute à la solution un peu d'acide et, comme dans les cas précédents, nous retrouvons intégralement à la fin de l'expérience tout l'acide introduit dans le liquide.

L'invertine n'est pas non plus sensiblement détruite lors de l'hydrolyse du saccharose et elle nous apparaît à ce point de vue comme se comportant d'une manière entièrement comparable à l'acide chlorhydrique, avec cette nouvelle différence que la température de la réaction est encore abaissée et la vitesse d'hydrolyse augmentée ; les diastases nous apparaissent donc comme des catalyseurs agissant à la température ordinaire.

Il faut cependant faire observer que cette notion de la non-destruction de la diastase ne résulte pas immédiatement des faits observés, nous constatons en effet que son action est d'abord rapide, puis qu'elle diminue peu à peu et qu'il reste souvent dans le liquide une certaine quantité de matière non transformée, variable avec les diastases et les conditions de la digestion, tout se passe donc à première vue comme si la diastase disparaissait peu à peu, mais si on vient à éliminer les produits résultant de la transformation on permet à la décomposition d'être complète, nous reviendrons bientôt sur ce point

S'il n'est pas douteux que les réactions diastasiques sont assimilables aux réactions catalytiques, nous avons cependant encore à nous demander si les deux sortes de réactions, correspondant aux acides et aux diastases, sont bien régies par les mêmes lois, et nous considérerons à cet égard l'influence de la concentration du corps transformé par une quantité donnée de diastase et l'influence de la concentration de la diastase elle-même

2 Influence de la concentration du corps transformé

Les catalyses opérées par les acides suivent la loi des masses, d'après laquelle la décomposition d'un corps est proportionnelle à sa concentration, si on considère une réaction catalytique aussi simple que possible, dite monomoléculaire, c'est-à-dire qui ne porte que sur un seul corps et ne tend pas vers un

équilibre limitant une réaction inverse, on aura pour vitesse v de transformation, à un moment donné

$$v = \frac{dx}{dt} = \mathrm{K}\,(a - x)$$

a étant la concentration du début, x la quantité de matière transformée au temps t et k une constante exprimant l'affinité, en intégrant cette expression on a

$$\frac{1}{t} \log \frac{a}{a - x} = k$$

C'est la formule de WILHELMY L'expérience montre qu'elle est applicable en particulier au cas de l'hydrolyse du saccharose par les acides, cette hydrolyse peut en effet être considérée comme le type de réaction monomoléculaire, la concentration en saccharose varie seule, la concentration en eau pouvant être considérée comme constante

Cherchons à comparer à ce résultat ce qui se passe lorsqu'on fait agir l'invertine, les deux réactions peuvent être comparées, car elles vont toutes deux jusqu'au bout, sans arriver à un équilibre

On peut donc demander à l'expérience de vérifier si oui ou non l'inversion du saccharose par l'invertine donne également pour le coefficient K d'affinité une valeur constante L'introduction de la diastase fait bien cesser l'homogénéité du milieu, puisqu'il s'agit d'un colloïde, mais la quantité en est si faible qu'on peut cependant considérer pratiquement le milieu comme homogène Or on constate que l'inversion du saccharose par l'invertine est plus rapide que ne l'indique la loi logarithmique applicable au cas des

acides. On obtient par exemple les nombres ci-dessous :

Solution de saccharose de 0,6 N (= 17,1 0/0)

Temps (min.)	26	115	182	311	373	511	530
$K \times 10^6$	105	143	159	174	174	181	185

La méthode que nous venons d'employer pour établir la comparaison entre les réactions diastasiques et les réactions catalytiques ordinaires peut être contrôlée par celle qui consiste à mesurer la *quantité de matière transformée pendant le même temps* dans deux systèmes contenant le même corps, ici le saccharose, à des *concentrations différentes*, la quantité d'acide ou de diastase restant constante.

Dans le cas d'un acide, on constate que les quantités de saccharose transformé sont proportionnelles à la concentration, ce que fait prévoir la loi des masses ; avec l'invertine elles n'apparaissent pas proportionnelles aux concentrations et restent indépendantes de celles-ci pour des concentrations moyennes, la quantité de sucre interverti se trouve être la même quelle que soit la concentration, une quantité donnée de diastase produit son effet, toujours le même, sans se préoccuper en quelque sorte, comme les acides, de la quantité de sucre présent autour d'elle.

En fait, ce n'est que pour des concentrations comprises entre 10 et 40 p. 100 de saccharose qu'il en est ainsi ; pour des teneurs inférieures à 5 p. 100 le sucre interverti diminue sensiblement et lorsque la concentration est très faible la quantité de sucre interverti apparaît comme proportionnelle à la concentration ; enfin pour de très fortes concentrations l'inversion du

saccharose diminue de vitesse à mesure que la concentration augmente, suivant ainsi une loi inverse de la loi des masses, on obtient ainsi pour des concentrations croissantes en saccharose les vitesses suivantes (mg de sucre interverti par minute)

Concentration 0/0)	Vitesse d'inversion
0,342	0,58
0,875	1,41
1,710	2,40
3,42	2,96
8,55	4,65
17,1	5,04
34,2	4,45
51,3	2,82
68,4	1,15

On peut encore varier le mode expérimental en déterminant les *temps nécessaires pour transformer des proportions égales de substance* dans des systèmes de concentrations inégales Si la réaction suit la loi des masses on doit obtenir des temps égaux, or le désaccord subsiste entre les deux modes d'inversion, il apparaît même avec plus de netteté qu'avec les deux méthodes précédentes, ainsi qu'en témoignent les résultats que je transcris ci-dessous et qui se rapportent à l'hydrolyse du saccharose en présence d'invertine

Saccharose	Temps (min) pour $\frac{x}{a} = 0,25$	Temps (min) pour $\frac{x}{a} = 0,50$
2,5	165	370
10	733	1400
30	1955	4330
55	6844	16180

Nous sommes donc amenés à admettre que les lois

d'action de l'invertine sont différentes des lois chimiques ordinaires ou qu'il intervient un facteur qui influence la vitesse de transformation et produit une discordance apparente

On a proposé successivement différentes formules empiriques pour exprimer la marche de l'hydrolyse par les diastases, nous ne croyons pas utile d'en parler ici, qu'il nous suffise de savoir qu'elles font intervenir différentes hypothèses, l'une d'entre elles (V Henri) consiste à admettre l'existence de *combinaisons* s'effectuant entre la *diastase d'une part*, le *corps* sur lequel elle agit et les produits de l'hydrolyse d'autre part Il se produirait ainsi *plusieurs équilibres* à chacun desquels s'appliquerait la loi des masses

Dans une étude récente, Colin et M[lle] Chaudun ont montré que la loi d'action de l'invertine est d'autant plus voisine de la loi logarithmique que la teneur en saccharose est plus faible pour une quantité constante de diastase et que c'est de la valeur du *rapport du saccharose à la sucrase* et non de la concentration absolue en sucre que dépend la vitesse de l'hydrolyse

Il paraît bien que la discordance que nous venons de signaler s'explique pour une action ralentissante exercée par les *produits de la réaction*, on arrive en effet au même résultat par addition de sucre interverti et l'action secondaire est d'autant plus considérable que la proportion du sucre interverti au saccharose est plus élevée, on pourrait penser à l'établissement d'une réaction inverse, mais on doit abandonner cette idée dans le cas du saccharose, car le *lévulose seul* se trouve déterminer un retard presque aussi considé-

rable qu'une solution équimoléculaire de sucre interverti, d'autre part, un retard analogue est produit par le lévulose dans *des actions diastasiques où il n'apparaît pas*, par exemple dans le dédoublement du maltose par la maltase De même on permet à la transformation de l'amidon de s'opérer plus vite sous l'action de l'amylase en se débarrassant du maltose formé par la fermentation ou par la phénylhydrazine Il ne s'agit donc pas vraisemblablement d'une action d'ordre chimique, mais d'ordre physique et on a remarqué que des solutions *isovisqueuses* de *mannite* ou de *glycérine* produisent le même effet que le lévulose

Des résultats analogues ont été obtenus avec les autres diastases et on est en droit de ne voir dans les réactions diastasiques qu'un cas particulier des phénomènes catalytiques de la chimie ordinaire, les perturbations trouvant leur explication dans la nature colloïdale du catalyseur et les propriétés physiques des produits résultant de la réaction

3 Influence de la concentration de la diastase

Il existe à cet égard une nouvelle discordance apparente entre la manière dont s'effectue l'hydrolyse par les acides et la digestion par une diastase Quand il s'agit d'un *catalyseur* inorganique *solide* la vitesse de décomposition dépend uniquement de la *surface* de contact, si le catalyseur est dissous, que le milieu se trouve par suite homogène, la vitesse de décomposition devient proportionnelle à la *concentration du catalyseur*, c'est le cas par exemple d'un acide ou d'une

base, il y a d'ailleurs lieu d'observer qu'il ne s'agit pas ici de la concentration réelle de l'acide ou de la base, mais bien du *degré de dissociation* qui leur correspond, ce sont en effet les ions H^+ et OH^- qui interviennent activement dans le phénomène.

Cette loi peut n'être plus vraie quand il s'agit des catalyseurs colloïdaux que sont les diastases et les faits sont à cet égard très différents suivant le degré de *purification* des diastases employées, les recherches d'AMBARD et de ses collaborateurs mettent bien la chose en évidence. Les auteurs se sont appliqués à faire le départ entre l'action de la diastase aussi pure que possible et les électrolytes qu'elle contient avant sa purification.

Préparons de l'amylase et un empois d'amidon bien pur, en opérant par dialyse qui enlève les substances salines, dans ces conditions, la digestion réalisée est très faible, ajoutons à un volume donné de ce mélange (20 cm³) *1 cm³* d'une solution de *chlorure de sodium à 5 p. 100*, l'hydrolyse devient très active, cela posé, en laissant constante la concentration de l'amidon et celle du chlorure de sodium, faisons varier les quantités d'amylase dialysée, on obtient les résultats suivants :

Dilution de la solution d'amylase	Concentration relative de la solution d'amylase	Sucre produit en 1 heure
$\frac{1}{128}$	1	0,92
$\frac{1}{32}$	4	4
$\frac{1}{8}$	16	15,9

L'hydrolyse est nettement proportionnelle aux

quantités de diastase introduite Répétons cette première expérience en mélangeant à de l'empois d'amidon dialysé des volumes d'*amylase non purifiée*, on obtient alors pour les quantités de sucre produit par heure des nombres qui sont, au moins pour des quantités faibles de diastase, sensiblement proportionnels aux carrés de ceux qui expriment les concentrations de la diastase

Concentrations relatives de la diastase	Sucre produit en 1 heure
—	—
1	0,4
2	1,6
4	4,6
8	20,4
16	67,6

Ces résultats s'expliquent aisément si on admet que la vitesse d'hydrolyse est proportionnelle à la quantité A d'amylase pure introduite et proportionnelle également à la quantité E d'électrolytes actifs, quand il s'agit d'amylase non purifiée on fait varier à la fois A et E et les valeurs de la vitesse de réaction apparaissent comme proportionnelles à AE, c'est-à-dire au carré de la quantité d'amylase impure

Les sels neutres agissent d'ailleurs d'une manière absolument comparable dans l'hydrolyse effectuée par les acides et les deux sortes de réactions peuvent encore être considérées comme identiques à ce nouveau point de vue

4 Rôle des acides organiques dans la digestion des sucres

Nous avons vu que le suc cellulaire des végétaux présente une réaction acide qui, dans certains cas

particuliers, peut être très intense, et la question s'est naturellement posée de l'intervention possible des acides organiques (acides oxalique, citrique, malique, tartrique) dans la digestion des sucres, en dehors de toute action diastasique, or on constate souvent la concomittance dans une même cellule d'une acidité importante et de substances facilement hydrolysables, même à la température ordinaire, par les acides, comme c'est le cas du saccharose, c'est en particulier ce qui se passe dans les fruits acides

Pour expliquer cette anomalie, on a tout d'abord émis l'hypothèse que l'acide et le saccharose ne se trouvent point en contact en réalité, localisés qu'ils seraient dans des vacuoles spéciales Mais Colin et Belval viennent de montrer que le jus de presse de tels tissus débarrassés par ébullition de leurs diastases ne présentent pas non plus d'hydrolyse en rapport avec leur teneur en acide libre, il suffit pour s'en rendre compte de comparer l'hydrolyse d'une même solution de saccharose par un tel jus de presse et par une solution pure d'acide libre correspondant à la même concentration

Adressons-nous par exemple à l'Orange qui contient de l'acide citrique, les déviations polarimétriques observées successivement par une solution de saccharose à 5 p 100 sont les suivantes, pour un tube de 2 décimètres, l'expérience étant faite à 80° (on aurait des résultats identiques à la température ordinaire, à la vitesse de la réaction près)

$$\text{Acidité} = \frac{N}{225}$$

Temps (heures)	Jus	Ac. citrique
—	—	—
0	6°12'	6°16'
1 ½	6°12'	5°4'
3 ½	6°10'	3°12'
5 ½	6°	1°44'
8 ½	6°	0°20'
9 ½	6°	— 0°2'

Le jus de presse ne produit pour ainsi dire pas d'hydrolyse alors que la solution d'acide citrique en détermine une très importante. A quoi tient cette différence ? COLIN et BELVAL la rapportent au fait que dans le jus de presse, il existe, en dehors de l'acide organique libre, des sels de ce *même* acide, celui-ci aurait pour effet de diminuer la dissociation de l'acide libre, de diminuer le pH du liquide, et par suite son pouvoir hydrolysant. Comparons par exemple l'hydrolyse d'une solution de saccharose sous l'action du jus de presse de l'Orange, de l'acide citrique du même titre et enfin d'acide citrique en présence des cendres provenant d'un volume de suc égal à celui qu'on fait agir séparément, on obtient les résultats ci-dessous :

$$\text{Acide citrique} = \frac{N}{120} \qquad \text{Citrate} = \frac{N}{500}$$

Temps (heures)	Jus	Acide citrique libre	Ac. citrique + citrate
—	—	—	—
0	6°45'	6°44'	6°30'
1	6°24'	4°46'	6°6'
3	5°30'	1°24'	5°6'
6	4°10	— 0°56'	3°34'
10	2°45'	— 1°48'	2°12'

Les déviations polarimétriques se trouvent être de même ordre dans le premier et le 3e cas et l'hydrolyse est alors beaucoup plus faible qu'avec le seul acide

citrique, ce qui intervient ici c'est le rapport de l'acide libre à l'acide combiné et nous sommes en présence d'une exception au fait que nous signalions il y a un instant et qui était relatif à l'action favorisante des sels dans l'hydrolyse par les acides, cette exception ne vaut que pour des sels dont l'acide est le même que celui qui existe à l'état libre

---

CHAPITRE IV

RÉVERSIBILITÉ DES ACTIONS DIASTASIQUES

A côté des réactions totales, ou pratiquement totales, il en existe qui sont limitées par le fait que, dans les conditions où elles se produisent, la réaction inverse est possible ; si on traite par exemple l'alcool par un acide il se forme un éther, mais la vitesse d'éthérification, d'abord très grande, diminue peu à peu et arrive à ne plus progresser pour une certaine proportion d'éther formé ; à ce moment, la vitesse de la réaction inverse est précisément égale à celle qui aboutit à la formation d'éther ; il se constitue un équilibre.

Nous avons laissé entendre dans ce qui précède que certaines actions diastasiques aboutissent, elles aussi, à un équilibre limitant deux réactions inverses ; c'est à propos de la maltase qu'on a signalé pour la première fois (CROFT HILL) une réversibilité possible ; l'hydrolyse du maltose ne va pas jusqu'à complète transformation de ce biose, elle s'arrête lorsque le liquide contient 16 p. 100 de maltose et 84 p. 100 de glucose. Inversement, de la maltase extraite de la Levure de bière et mise en présence d'une solution de glucose à 40 p. 100, à 30°, modifie lentement la composition du liquide ; si on mesure le pouvoir

rotatoire et le pouvoir réducteur on voit que le premier augmente et que le second diminue ; si on admet qu'il se forme dans ces conditions du maltose, les données précédentes permettent de calculer la proportion de ce sucre qui est donnée par le tableau suivant

Durée (jours)	Pouvoir rotatoire	Pouvoir reducteur	Maltose 0/0 de sucre
0	+ 52°5	100,5	0
5	+ 55°	97,7	3,2
14	+ 58°3	95,8	7,1
28	+ 60°3	94	10
42	+ 62°7	92,5	12,5
70	+ 63°6	90,6	14,5

C'est encore pour une proportion de 16 p. 100 de maltose que la réaction s'arrête

En fait, on a reconnu que dans cette expérience il se produit une synthèse, non pas de maltose, mais d'un isomère, l'isomaltose ; or l'isomaltose n'est pas hydrolysé par la maltase ; il est dédoublé au contraire par l'émulsine ; il ne s'agit donc pas ici d'une véritable réversibilité et, pour que cette notion soit définitivement acceptable, il faudrait mettre en évidence une réaction dans laquelle le produit qui est hydrolysé par une certaine diastase soit capable de se reproduire à partir des produits de dédoublement sous l'influence de la même diastase

On a de la même manière (Fischer et Amstrong) obtenu de l'isolactose à partir du glucose et du galactose en présence de la lactase de la Levure du Caucase ; il est possible que la maltase et la lactase employées dans ces expériences ne soient pas pures, mais mélangées à d'autres qui détermineraient la réaction

synthétique, les deux réactions inverses sont bien établies, mais correspondraient à deux phénomènes indépendants l'un de l'autre.

WOLFF et FERNBACH ont également démontré l'existence, dans les grains jeunes de Céréales, d'une diastase capable de précipiter l'amidon soluble de ces solutions ; ce serait grâce à elle que l'amidon se déposerait à l'état solide dans les cellules végétales.

Plus récemment PANTANELLI et FAURE ont obtenu, à l'aide de l'amylase extraite de l'*Aspergillus Oryzæ* et introduite dans une solution alcaline de maltose la production d'une substance précipitable par l'alcool et de nature dextrinoïde ; dans ces deux derniers cas on assiste à des réactions synthétisantes déterminées par l'intervention d'une diastase, mais on ne peut assurer qu'il s'agit de réactions réversibles produites par des diastases hydrolysantes.

Les faits les plus précis ont été fournis, sur la question des réactions diastasiques réversibles, par BOURQUELOT dans ses recherches relatives à l'émulsine. Contrairement à ce qui se passe pour la plupart des diastases celle-ci n'est pas détruite par l'alcool à froid, même lorsque son titre atteint 95° et que le contact avec ce réactif est prolongé ; c'est ainsi que des racines de Gentiane jaune, contenant de la gentiopicrine et traitées par de l'alcool à froid, transforment leur glucoside sous l'action de l'émulsine en glucose et gentiogénine.

De même, si on introduit dans des alcools de 60°, 80°, 85°, 90° et 95° de la gentiopicrine (1 gr. pour 100 cm³) et de l'émulsine en poudre (0 gr. [illegible]) on constate que, lorsque la réaction est arrêtée, la rota-

tion de — 4° (tube de 2 dm) qui devait être remplacée par une déviation de + 3°0 si l'hydrolyse était complète, est devenue respectivement

Alcool	Deviation
60°	− 30
80°	30
85	52'
90	1°48'
95	3°40

Il y a donc eu hydrolyse dans tous les liquides, même dans l'alcool à 95°, et l'émulsine, bien que l'expérience ait duré jusqu'à plus de trois mois, n'a pas été détruite, il y a lieu de remarquer que dans ces conditions la diastase ne s'est pas dissoute et on assiste donc à une réaction diastasique provoquée par une substance solide le catalysateur est analogue ici à une lame de platine

D'autre part, jamais la réaction n'est allée jusqu'au bout et elle paraît être limitée par un état d'équilibre S'il s'agit d'une réaction réversible, nous devons nous attendre à obtenir en présence d'alcool une grande quantité de gentiopicrine en introduisant dans le véhicule en question de l'émulsine, du glucose et de la gentiogénine, elle serait au contraire très faible en présence d'eau pure puisqu'alors l'état d'équilibre correspond à une faible teneur en glucoside, l'alcool doit donc être particulièrement favorable pour de tels essais de synthèse organique

En réalisant l'expérience en question, on voit bien en effet la rotation se modifier dans le sens prévu, mais l'analyse ne permet de déceler aucune trace de gentiopicrine Par contre une réaction synthétisante

s'est bien produite ; il s'est formé un glucoside de l'alcool éthylique, l'éthylglucoside-β $C^2H^5 \cdot C^6H^{11}O^6$.

D'après ce que nous venons de dire, il était à penser que la gentiogénine n'intervenait en rien dans cette formation et en effet on obtient le même résultat avec le liquide simplifié constitué comme il suit

Alcool 85° . .	250 cmc
Glucose	2 gr 5
Emulsine	0 gr 5

Au bout de quinze jours, à la température ordinaire, Bourquelot obtenait 2 gr 20 d'éthylglucoside cristallisé, c'est-à-dire avec un rendement considérable, il ne restait alors que 25 p. 100 de glucose à l'état libre

A la suite de cette synthèse, Bourquelot et ses élèves ont pu réaliser de nombreuses autres synthèses de glucosides avec la plupart des alcools primaires, secondaires ou tertiaires, mono ou polyvalents, acycliques ou cycliques.

De la même manière, on a préparé des alcoolgalactosides β à l'aide de la lactase contenue dans l'émulsine, et, fait très important à souligner, tous ces glucosides se trouvent dédoublés par la diastase qui a servi à les préparer, lors de ce dédoublement, la réaction s'arrête encore et cela pour la même teneur de glucose à l'état libre que celle qui limite la réaction synthétisante, nous pouvons donc bien parler ici de réaction inverse

L'émulsine n'est pas un ferment simple et, d'après Bourquelot, elle comprendrait en particulier une glucosidase β correspondant à l'hydrolyse et à la synthèses des glucosides que nous venons de considérer et une lactase agissant vis-à-vis de galacto-

sides, d'autre part la masse de l'alcool employé, considérable par rapport à celle du glucose (100 cm, pour 1 gr.), empêcherait toute condensation du glucose par l'intervention d'une autre diastase contenue dans l'émulsine.

Bourquelot a pu obtenir de façon analogue le gentiobiose qui est un β glucoside du glucose, à partir du glucose et de l'émulsine.

On sent toute l'importance de cette notion de réactions diastasiques réversibles et son application à la compréhension des synthèses organiques qui se produisent dans la plante. Mais nous ne sommes encore que mal éclairés par les faits à ce sujet et ce n'est guère que pour la lipase que nous possédons des données suffisamment précises pour être assurés que cette diastase est à la fois agent de saponification et agent de synthèse.

Dunlop et Gilbert, incorporant des graines de Ricin broyées et traitées par l'éther dans un mélange d'acide oléique et de glycérine, virent que l'acidité, qui était au début de 337 mg (par gramme de mélange, tombait à 248,6 après 11 jours d'expérience ; 26 p. 100 de l'acide s'étaient combinés.

Ivanow obtint des résultats semblables avec l'extrait glycériné de graines de Pavot, de Colza et de Lin, l'acidité est passée en trente-deux jours de 44,6 à 20,52. Si on fait usage d'un extrait aqueux et non glycériné on observe au contraire une saponification. On a pu de même réaliser à l'aide de la lipase des graines de Ricin la synthèse de la triacétine (Taylor). Donc la lipase produit à la fois les deux réactions inverses d'hydrolyse et de synthèse des huiles.

En ce qui concerne les glucosides, CIAMICIAN et RAVENNA, injectant des tiges de Maïs avec des solutions de glucosides tels que la salicine ou de leurs produits aromatiques de dédoublement, ont constaté que la salicine est hydrolysée par la plante, que la saligénine est au contraire transformée en salicine et ils admettent que les deux réactions s'arrêtent quand le rapport de la saligénine libre à la saligénine combinée est égal à 2.

Nous avons fait observer que certaines réactions diastasiques, par exemple celle qui est produite par l'invertine, sont totales ; il est évident que dans ce cas il ne peut s'agir de réversibilité et la synthèse du saccharose ne peut s'expliquer par l'intervention de l'invertine ; cela est d'ailleurs en relation avec le fait qu'on ne trouve pas d'invertine dans différents organes qui emmagasinent du saccharose, c'est ce qu'on constate en particulier pour le tubercule de Betterave. La notion de réversibilité de certaines actions diastasiques n'en garde pas moins toute son importance au point de vue général.

DEUXIÈME PARTIE

PHÉNOMÈNES D'OXYDATION PRÉSENTÉS PAR LES VEGÉTAUX

CHAPITRE V

LA RESPIRATION

1 Définition

Nous avons envisagé dans les chapitres qui précèdent les phénomènes par lesquels les substances ternaires accumulées sous forme de réserves sont ramenées à un état plus simple et redeviennent directement utilisables, en fait, il s'agit de substances qui, ayant ou non passé par un stade de réserve, ayant été ou non fabriquées par le végétal même qui en tire profit, vont d'une part servir à l'édification de nouvelles cellules et d'autre part entrer dans des réactions auxquelles correspond un dégagement d'énergie, ce sont en particulier des oxydations qui aboutissent à une telle libération d'énergie apparaissant sous forme de chaleur ou permettant d'autres réactions qui, elles, sont endothermiques, une même substance peut d'ailleurs présenter à la fois ce double rôle plastique et énergétique

Ce fait apparaît avec une évidence particulière quand on considère une culture de Moisissure, mettons par exemple à se développer du *Sterigmatocystis nigra* sur une solution minérale contenant le soufre, le phosphore, le magnésium, le potassium et le fer nécessaires à la croissance du Champignon, de l'azotate d'ammonium qui lui fournira l'azote et du glucose comme unique source de carbone, lorsque tout le sucre a disparu dans le liquide nutritif le mycélium est loin de renfermer tout le carbone initial, c'est que, si le glucose a contribué à édifier le mycélium, une partie de ce sucre a été oxydée et a produit, par fixation d'oxygène de l'air, du gaz carbonique et de l'eau suivant la formule



$$C^6H^{12}O^6 + 6\ O^2 = 6\ CO^2 + 6\ H^2O$$

Si nous admettons qu'il ne se soit pas formé d'autre substance carbonée restant inutilisée dans le liquide de culture, le carbone initial est représenté à la fin par la somme du carbone du mycélium et du carbone contenu dans le gaz carbonique dégagé, le rendement, c'est-à-dire le rapport existant entre le poids de mycélium formé desséché et celui de la substance carbonée qui a servi d'aliment, rapport qui, dans les meilleures conditions atteint une valeur d'environ 0,45, dépend essentiellement de la valeur du rapport du carbone contenu dans le mycélium à celui qui se retrouve dans le gaz carbonique produit

Quand le maximum du poids de substance mycélienne a été atteint, et le fait correspond à la disparition du sucre dans le milieu de culture, on constate que le dégagement du gaz carbonique continue

(fig 17), ce phénomène correspond à une perte de poids pour la Mucédinée et, dans cette seconde phase de la culture, celle de l'autolyse, ce sont encore des subs-

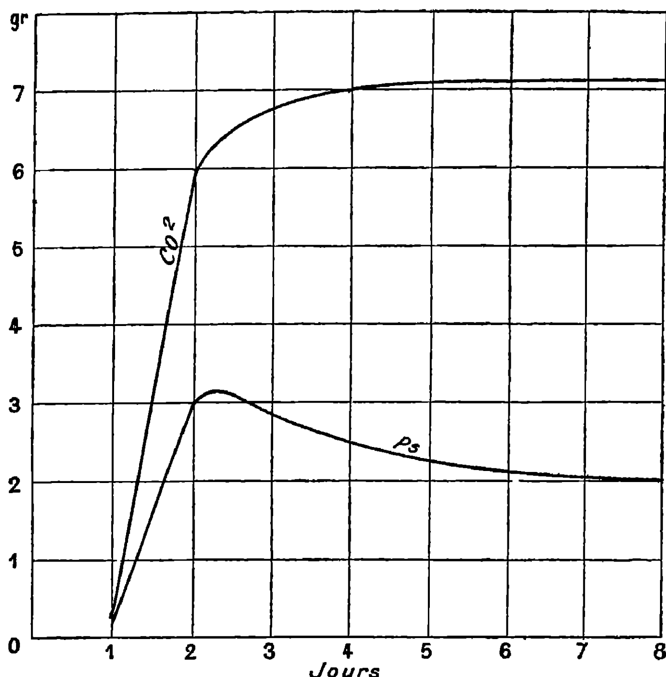


Fig 17 — Diagrammes représentant les poids de substance sèche *Ps* et les poids de gaz carbonique CO^2 dégagé par une culture de *Sterigmatocystis nigra* effectuée, à 36°, en présence d'un milieu nutritif complet et contenant 7 gr de saccharose

tances sucrées qui disparaissent, la seule différence consiste en ce qu'elles ne sont plus remplacées par une nouvelle assimilation

Quand une graine germe nous pouvons constater de la même manière qu'elle fixe de l'oxygène, qu'elle dégage du gaz carbonique et que par suite elle subit une diminution du poids de sa substance sèche, nous avons déjà signalé ce fait, rappelons encore ici les nombres donnés à cet égard par BOUSSINGAULT pour le Blé et la Lentille et qui se rapportent à un nombre égal de graines et de plantules germées à l'obscurité pendant plusieurs semaines

	Graines	Plantules	Perte	
	—	—	—	
Blé	1 665	0 713	0 952	= 57 %
Lentille	2 237	1 076	1 161	= 52 %

Nous sommes en présence d'un phénomène de désassimilation, de catabolisme dans lequel la perte en poids est compensée par une libération d'énergie, quand la réserve de la graine est contenue dans un albumen, les phénomènes se passent exactement comme dans la première phase de la culture du *Sterigmatocystis nigra*, si les réserves sont de nature cotylédonaire, c'est à la 2e phase de la même culture que le phénomène est en tout point comparable

L'ensemble des échanges gazeux consistant en fixation d'oxygène et dégagement de gaz carbonique a été compris sous le nom de respiration, et ce terme a longtemps désigné l'aspect purement extérieur des phénomènes d'oxydation de la plante, le plus facile à mettre en évidence et à mesurer, c'est de la même manière que la fonction chlorophyllienne a tout d'abord été uniquement envisagée dans les échanges de gaz qui en résultent avec l'atmosphère, mais, alors que pour l'assimilation du gaz carbonique par les

plantes vertes, il s'agit d'une fonction unique et parfaitement définie, il n'en est plus de même pour la respiration, les échanges gazeux qui lui correspondent sont dans tous les cas de même nature, mais ils ne sont que la résultante d'un nombre indéterminé de réactions chimiques, portant sur des corps variés, dont les proportions respectives sont elles-mêmes très différentes d'une cellule à l'autre

Nous envisagerons tout d'abord les échanges gazeux respiratoires en eux-mêmes, nous verrons comment leur intensité varie suivant les conditions internes et externes, puis nous verrons comment ils sont influencés dans leur nature même par celle des substances oxydées

2 Mise en évidence

Il suffit d'enfermer des végétaux ou des organes dépourvus de chlorophylle dans un vase hermétiquement clos, maintenu à la lumière ou à l'obscurité, pour constater que la composition de l'atmosphère change rapidement, il se dégage du gaz carbonique, facilement décelable, et il disparaît de l'oxygène Nous avons vu que lorsqu'il s'agit de tissus chlorophylliens l'expérience ne réussit pas à la lumière, mais seulement à l'obscurité, les échanges respiratoires ont encore lieu cependant dans ce cas à la lumière, mais ils se trouvent masqués par le phénomène inverse de l'assimilation chlorophyllienne

Nous avons pu prouver qu'il en est bien ainsi par l'expérience de GARREAU, rappelons que celle-ci consiste à enfermer des organes pourvus de chlorophylle dans un vase clos, contenant au début de l'air dépourvu

de gaz carbonique, on place dans la même enceinte un cristallisoir où on a versé de l'eau de baryte, le tout est exposé à la lumière. On constate au bout d'un certain temps que l'eau de baryte se trouble du fait de l'absorption du gaz carbonique qui a été dégagé par le végétal, la baryte soustrait ainsi à l'assimilation chlorophyllienne une partie du gaz résultant du phénomène respiratoire.

CORENWINDER a modifié légèrement l'expérience de GARREAU en plaçant une plante verte dans une cloche à l'intérieur de laquelle il faisait passer un courant continu d'air débarrassé de son gaz carbonique et en faisant ensuite barboter cet air dans de l'eau de baryte. Avec des plantes adultes bien éclairées le résultat est souvent nul : la solution de baryte reste limpide, mais si on s'adresse à des rameaux jeunes, on observe un trouble de la baryte, le gaz carbonique émis par les organes étant en trop grande quantité pour pouvoir être repris aussitôt par la fonction chlorophyllienne.

Ces expériences ont toujours été faites avec des organes qui comprennent, à côté de cellules chlorophylliennes, des cellules incolores et on peut encore se demander si le gaz carbonique dégagé ne provient pas uniquement de ces dernières, la question de savoir si une cellule verte est capable de dégager du gaz carbonique à la lumière n'est pas entièrement résolue par le procédé qui vient d'être indiqué.

D'ailleurs BLACKMANN a repris cette question en étudiant les échanges gazeux qui s'effectuent au niveau immédiat de chacune des faces de feuilles exposées à la lumière, il a montré que dans les conditions d'éclairement de ses expériences, il ne se dégageait aucune

trace de gaz carbonique en dehors de ces feuilles, s'il y a eu respiration, comme cela est infiniment probable, tout le gaz carbonique qui en résulte a été repris par l'assimilation chlorophyllienne

Le dégagement de gaz carbonique dans le phénomène respiratoire peut être facilement mis en évidence par le trouble qu'il produit dans l'eau de chaux ou de baryte, ou par son absorption à l'aide d'une solution de potasse, si on enferme des Champignons des graines en voie de germination, des tubercules, dans un flacon à l'intérieur duquel on dispose un tube contenant de la potasse (fig 18 B), le gaz carbonique produit est absorbé par ce réactif et on constate, à l'aide d'un manomètre à mercure, qu'il se produit une diminution de pression à l'intérieur du vase, l'absorption d'oxygène n'étant plus compensée par le dégagement de gaz carbonique, l'ascension du mercure cesse à un moment donné et on constate alors que la hauteur de la colonne de mercure soulevé est très sensiblement égale au $\frac{1}{5}$ de celle qui correspond à

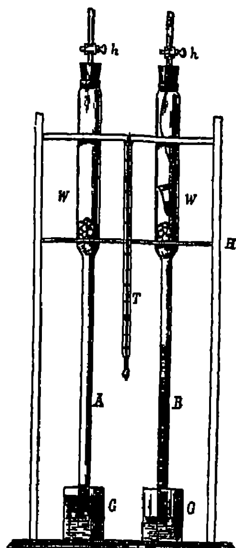


Fig 18 — Flacons dans lesquels on a enfermé des graines en voie de germination, en *B* on a introduit un tube contenant de la lessive de potasse qui absorbe le gaz carbonique produit

la pression atmosphérique soit environ 15 centimètres, cette hauteur exprime la pression de l'oxygène qui a disparu, le ménisque ne subit plus alors de déplacement que sous l'intervention de changements de pression atmosphérique ou de température Cette expérience nous montre que tout l'oxygène disparaît, mais que l'azote se comporte vis-à-vis de la plante comme un gaz inerte

Si nous répétons l'expérience précédente sans introduire de potasse à l'intérieur du flacon (fig 18 A) on constate très généralement encore une diminution de pression, mais celle-ci tient, dans certains cas, à l'inégalité des volumes d'oxygène et de gaz carbonique échangés (le volume du gaz carbonique dégagé étant plus petit que celui de l'oxygène absorbé), mais surtout au fait que le gaz carbonique est beaucoup plus soluble que l'oxygène dans les tissus aqueux de la plante

Le phénomène respiratoire peut encore être mis en évidence, en ce qui concerne l'utilisation de l'oxygène, en se servant comme indicateur du bleu de méthylène Si on place des graines en voie de germination dans le fond d'un tube à essai et qu'on ajoute de l'eau colorée par du bleu de méthylène, on constate assez rapidement que la coloration subsiste à la partie supérieure du liquide, mais qu'il s'opère une décoloration dans la zone profonde, au contact des graines, cela tient à ce que l'oxygène dissous est absorbé et que, lorsqu'il vient à faire défaut, le bleu de méthylène est réduit à son tour, se comportant comme une source d'oxygène Vient-on à agiter le liquide, celui-ci reprend sa teinte bleue avec l'intensité primitive

L'expérience donne les mêmes résultats avec des plantes submergées quand on opère à l'obscurité, si on porte ensuite à la lumière, le liquide décoloré reprend sa couleur bleue, sans qu'il soit besoin de l'agiter, par suite du dégagement d'oxygène provenant de l assimilation chlorophyllienne du gaz carbonique

La nécessité de l'oxygène pour la vie de la plupart des végétaux est d'ailleurs démontrée par le fait que ceux-ci sont arrêtés dans leur croissance et sont incapables de manifester leurs fonctions physiologiques quand on vient à les placer dans des atmosphères artificielles dépourvus d'oxygène, constitués par exemple par de l'azote ou de l'hydrogène, nous ne faisons que signaler ici l'existence d'une exception à cette règle que nous aurons l occasion d'étudier plus loin

3 Intensité respiratoire

a Mesure

Lorsqu on veut évaluer l intensité de la respiration d'une plante ou d'un organe, on mesure ordinairement la quantité de gaz carbonique dégagé pendant un temps déterminé et, pour se mettre à l'abri de la cause d'erreur que nous venons de signaler touchant la grande solubilité du gaz carbonique, on entraîne celui-ci au fur et à mesure de sa production, de sorte que l'atmosphère qui est au contact du végétal est toujours très sensiblement constitué par de l'air normal, on emploie en d'autres termes la *méthode de l'air renouvelé*

On place l organe à étudier dans un vase à l'inté-

rieur duquel on fait circuler constamment un courant d'air qu'on a pris soin de débarrasser au préalable de son gaz carbonique, l'air se charge du gaz carbonique émis par la plante et celui-ci est absorbé par la lessive de potasse ou par de l'eau de baryte titrée (fig. 19), il est facile d'évaluer ensuite le poids du gaz carbonique dégagé, soit par l'augmentation de poids de la potasse soit par l'analyse alcalimétrique de la baryte.

Les dispositifs expérimentaux employés sont très variables. Si on utilise comme absorbant la potasse,

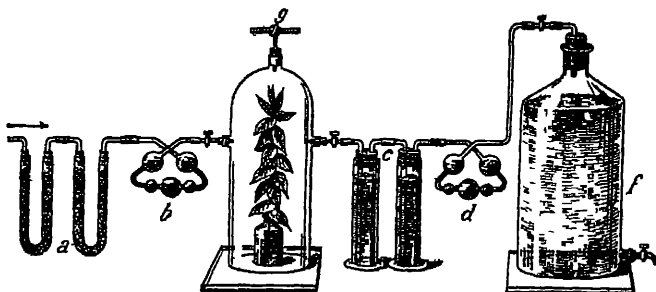


Fig. 19. — Appareil permettant de mesurer le dégagement du gaz carbonique en atmosphère renouvelée. Les tubes *a* et *b* absorbent le gaz carbonique de l'air, *c* et *d* celui qui est produit par la plante, *f* aspirateur.

on fait barboter l'air sortant de l'enceinte où est placé l'organe en expérience tout d'abord dans des tubes à boules contenant de l'acide sulfurique concentré qui absorbe la vapeur d'eau entraînée, le dernier de ces tubes doit témoigner par la constance de son poids que toute la vapeur d'eau a été fixée par l'acide sulfurique des tubes précédents, à la suite des tubes contenant

de la lessive de potasse, on place de même des tubes à acide sulfurique qui retiennent de la même manière l'eau qu'a cédée la potasse à l'atmosphère qui circule ; le dernier de ces tubes doit encore garder un poids constant pendant l'expérience Il suffit de peser avant et après l'expérience l'ensemble des tubes à potasse et des tubes à acide sulfurique qui sont disposés à leur suite pour avoir la mesure du gaz carbonique dégagé

Quand on s'adresse à la baryte comme fixateur du

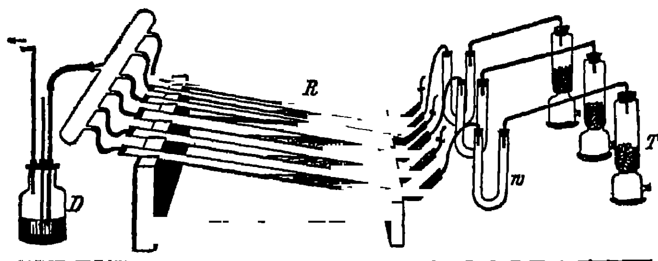


Fig 20 — Tubes de PETTENKOFFER permettant la fixation par l'eau de baryte du gaz carbonique émis par la respiration

gaz carbonique produit par la respiration on peut faire barboter l'atmosphère circulant dans l'appareil à l'intérieur de longs tubes de verre coudés à angle droit (tubes de PETTENKOFER) (fig 20) et dans lesquels on a introduit un volume connu d'eau de baryte, le courant d'air est réglé de façon qu'il forme à l'intérieur de la colonne liquide de grosses bulles de gaz qui se trouvent ainsi en longtemps contact avec la solution alcaline, il se forme un précipité de carbonate de baryum qui appauvrit progressivement l'eau de baryte et il suffit de comparer le titre alcalimétrique de la

solution primitive et du liquide restant à la fin de l'expérience dans le tube, après l'avoir filtré rapidement, connaissant le volume d'eau de baryte introduit, on en conclut la quantité de gaz carbonique émis par l'organe étudié

b Valeurs presentees par l'intensité respiratoire

Les résultats obtenus avec la méthode expérimentale qui vient d'être exposée montrent que l'intensité respiratoire est très variable et se trouve en particulier dépendre de la nature spécifique du végétal considéré C'est ainsi que différentes sortes de feuilles dégagent, par heure et par gramme de substance sèche, les quantités suivantes (cm³) de gaz carbonique pour des conditions moyennes

Haricot	1	Aucuba	0,2
Blé	0,8	*Pinus Pinaster*	0,09
Dahlia	0,5	*Crassula portulacea*	0,01
Geranium	0,4		

Très faible chez les plantes grasses, la respiration est moyenne pour les feuilles persistantes et relativement grande pour les plantes annuelles ou les feuilles caduques des plantes vivaces Les nombres qui viennent d'être mentionnés sont d'ailleurs rapportés à des poids égaux de substance fraîche et il est nécessaire de remarquer que la respiration particulièrement faible des feuilles grasses est en partie explicable par leur énorme teneur en eau

L'intensité respiratoire est d'autre part essentiellement variable avec l'état de développement des végétaux. Si on considère une plante annuelle et qu'on

rapporte les volumes de gaz carbonique dégagé en une heure à l'unité de volume de la plante, on constate les valeurs suivantes pour le Tabac (BONNIER et MANGIN)

Octobre, graines germées	0,26
Juin, plante feuillée	0,17
Juin, plante en fleurs	0,33
Septembre, plantes en fruits	0,23
Novembre, feuilles	0,08

Il existe donc pour l'intensité respiratoire deux maxima correspondant l'un à la germination, l'autre à la floraison, c'est-à-dire aux deux périodes de consommation des réserves

On observe des variations analogues chez les plantes vivaces à feuilles caduques, le *Sarothamnus scoparius* a fourni à BONNIER et MANGIN les résultats suivants

Décembre, branches sans feuilles	0,068
Février, — avec bourgeons fermés	0,137
Mars, branches avec bourgeons éclos	0,163
Avril, — avec feuilles	0,121
Mai — en fleurs	0,143

Il existe encore deux maxima, l'un correspond à l'éclosion des bourgeons, l'autre au développement des fleurs

Toutes les plantules en voie de germination présentent une respiration particulièrement intense, comme en témoignent les nombres ci-dessous (GARREAU) qui se rapportent au nombre de centimètres cubes de gaz carbonique dégagés par heure et par gramme de substance fraîche

Papaver somniferum	0,57
Lactuca sativa	0,30
Lepidium sativum	0,20

De même l'intensité respiratoire des fleurs et surtout des organes reproducteurs se montre nettement plus considérable que celle des organes végétatifs du même individu, chez la Giroflée cette intensité est représentée par 1 pour les feuilles, par 2,75 pour les fleurs et par 4,5 pour les organes sexués, c'est au moment de l'ouverture des pièces florales que la respiration atteint son maximum d'intensité Enfin, à égalité de poids de substance fraîche, les anthères présentent une respiration plus intense que les carpelles, double par exemple chez le Melon

Qu'il s'agisse d'ailleurs de la phase de germination ou de celle de la floraison, on observe toujours un

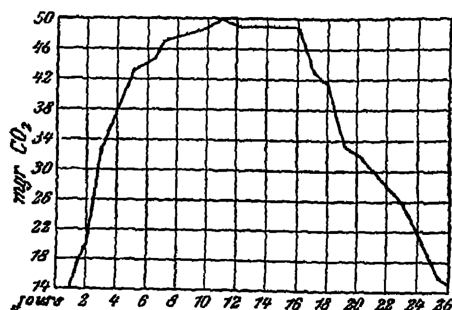


Fig 21 — Courbe donnant les intensités respiratoires de plantules de blé en fonction de la durée du développement (Rischavi)

maximum qui est bien mis en évidence par la courbe de Rischavi (fig 21), qui se rapporte aux quantités de gaz carbonique dégagé par unité de poids de substance fraîche au cours de la germination du Blé ; c'est environ au bout d'une semaine que le maximum d'intensité respiratoire se trouve réalisé dans ce cas parti-

culier ; la courbe de l'intensité respiratoire offre exactement la même allure que celle qui traduit la croissance de la plante.

En ce qui concerne les feuilles persistantes, l'intensité respiratoire diminue d'une manière constante depuis leur formation jusqu'à leur chute ; c'est ainsi que pour les feuilles du Fusain du Japon qui vivent deux saisons, on obtient les résultats suivants (Bonnier et Mangin) :

1re année —	Février, bourgeons	0,66
	Mai, feuilles	0,3[illegible]
	Août	0,18
	Déc.,	0,11
2e année —	Mai,	0,07

c. Vie ralentie des graines

Un assez grand nombre de recherches ont porté sur les échanges gazeux des graines considérées à l'état de repos ; la question qui se pose pour cette phase de la végétation est de savoir si on se trouve en présence d'une vie complètement suspendue ou *latente*, prête à se manifester quand les conditions convenables viennent à être réalisées, ou s'il s'agit simplement d'une vie plus ou moins *ralentie* ; c'est le même problème que celui qui se pose pour les Anguillules, les Tardigrades, les Rotifères, c'est-à-dire pour tous les organismes reviviscents.

Si on abandonne (Van Tieghem et G. Bonnier) à eux-mêmes trois lots de poids égaux de graines, l'un à l'air libre, l'autre dans un air confiné, le troisième dans du gaz carbonique pur, on constate qu'au bout de

deux ans le pouvoir germinatif est devenu pour les premières graines égal à 90 p. 100, à 45 p. 100 pour les secondes et nul pour les troisièmes, de plus l'air confiné contient alors 3,8 p. 100 de gaz carbonique et 14,4 p. 100 d'oxygène, il s'est donc effectué de faibles échanges gazeux respiratoires, mais très appréciables cependant. De telles expériences, faites dans des atmosphères non desséchées, on arrive à conclure que, dans les conditions normalement réalisées, la vie des graines est simplement ralentie.

Mais plaçons des graines soigneusement desséchées à l'intérieur d'un récipient communiquant avec un tube de GEISSLER (KOCH), effectuons dans l'appareil le vide le plus parfait qu'il soit possible et fermons-le à la lampe. Si on fait passer l'étincelle électrique dans le tube quelques mois après, on n'observe au spectroscope aucune des raies correspondant à l'azote ou au carbone, il n'y a donc pas eu d'échanges gazeux dans ces conditions spéciales et cependant les graines peuvent ensuite germer normalement, leur vie a été simplement suspendue.

De nombreuses expériences amènent à la même conclusion, si on laisse des grains de Blé pendant trois mois dans le mercure (C. DE CANDOLLE), ils germent ensuite parfaitement, bien qu'ils aient été ainsi soustraits à l'oxygène, il en est de même lorsqu'ils ont été soumis pendant quatre jours à la température de — 100°.

On peut également observer la germination de grains de Luzerne après un séjour de quinze ans dans de l'hydrogène, de l'azote, du chlore, du peroxyde d'azote, de l'oxyde de carbone, du gaz carbonique, de

l'acide chlorhydrique, de l'alcool absolu et même de l'alcool absolu contenant en dissolution du bichlorure de mercure (GIGLIOLI).

Il arrive même que le vide sec assure aux graines, ainsi que l'établissent les expériences de MAQUENNE sur le Panais, une longévité plus grande que l'air ordinaire, au bout de deux ans les graines conservées à l'air ne germent plus alors que les graines maintenues dans le vide sec sont encore capables, au bout du même temps, de se développer.

Nous sommes donc en présence de deux séries d'expériences concluant, les unes à une vie ralentie, les autres à une vie latente des graines. Faisons d'ailleurs observer qu'il existe dans toutes les expériences de la seconde série une cause d'erreur dont il faut tenir compte dans l'interprétation des résultats ; elle réside dans l'existence des téguments ou des péricarpes ; nous les avons vus se comporter comme imperméables vis-à-vis des milieux nocifs gazeux ou liquides (alcool bichloruré) et il se pourrait que, si on ne perçoit pas d'échanges gazeux s'établissant entre l'amande et l'extérieur, il s'en effectue cependant entre l'amande et l'atmosphère interne de la graine.

On peut aisément montrer d'une manière directe (P. BECQUEREL) que les téguments sont strictement imperméables aux gaz quand ils sont secs ; il suffit de fermer la partie supérieure d'un tube de verre avec un morceau homogène de tégument qu'on mastique avec soin sur les bords ; le tube peut ainsi être utilisé comme tube barométrique sans qu'aucune trace d'air pénètre dans la chambre ; vient-on par contre à déposer sur le tégument un peu d'eau, le mercure ne

tarde pas à baisser par suite du passage de l'air à travers la membrane imbibée.

Il resterait donc à voir s'il n'existerait pas des échanges gazeux entre une amande desséchée, débarrassée de ses téguments, et si le pouvoir germinatif se maintiendrait après un séjour dans le vide ; il faudrait établir d'autre part comparativement si des amandes mortes sont capables ou non d'être le siège d'échanges gazeux, car si, d'une manière implicite, nous avons considéré l'existence de tels échanges gazeux comme le critérium de la vie, il resterait à établir le bien fondé de ce principe, or il se trouve manifestement en défaut pour bon nombre d'organes morts.

C'est ainsi que des feuilles desséchées, puis réhumidifiées, présentent des échanges gazeux de même nature que ceux qui caractérisent le phénomène respiratoire. DEVAUX et BOUYGUES ont de même montré que le bois de Pin absorbe de l'oxygène et dégage du gaz carbonique alors même qu'il est stérilisé ; l'intensité de ces échanges n'est d'ailleurs pas très considérable et n'amène qu'une perte de poids annuelle d'environ 0 gr. 4 pour 1 kilogramme ; le quotient respiratoire $\frac{CO^2}{O^2}$ correspondant à ces échanges est d'ailleurs très faible, de l'ordre de 0,2.

BERTHELOT et ANDRÉ ont constaté d'une manière semblable que des feuilles portées à 100°, c'est-à-dire certainement tuées, offrent encore pendant un certain temps les échanges d'oxygène et de gaz carbonique qui caractérisent le phénomène respiratoire. Il s'agit ici de processus d'oxydation qui peuvent être de nature intime très différente de ceux qui constituent

la respiration, sans qu'on puisse d'ailleurs les différencier actuellement. Le nombre des substances organiques définies capables de subir à la température ordinaire des oxydations amenant le dégagement de gaz carbonique est d'ailleurs considérable et tous ces faits ne permettent pas de voir dans de tels échanges gazeux un critérium de la vie.

Palladine a de son côté montré que des tissus végétaux sont capables de présenter des échanges gazeux de même nature que ceux de la respiration alors qu'ils ont été tués par le froid; le procédé consiste à soumettre des organes placés dans des tubes à essai à une température très basse (— 20°) réalisée par un mélange de neige, de chlorure de sodium et d'azotate d'ammonium et maintenue pendant 24 heures; extraits de ces tubes, les organes dégagent beaucoup plus de gaz carbonique que les jus de presse correspondants et Palladine a pu montrer qu'il existe un rapport entre l'intensité des échanges gazeux ainsi mis en évidence et la teneur en phosphore; nous aurons l'occasion de rapprocher ce phénomène de l'action du phosphore dans la fermentation alcoolique.

Mais revenons aux graines; ce qui est certain, c'est que, s'il s'agit pour les graines desséchées d'une vie ralentie, celle-ci est bien faible; le seul fait de la longévité de certaines d'entre elles le démontre. On ne peut rien affirmer de précis sur les cas signalés de graines enfouies depuis très longtemps dans le sol et qui auraient germé lors de leur mise en contact avec l'air, par l'établissement de tranchées par exemple; on n'est jamais assuré qu'il ne s'agit pas d'un ensemencement à distance et de nature récente. Il faut

aussi rejeter les contes relatifs à des grains de céréales (Blé, Seigle, Orge) qui, trouvés dans d'anciennes sépultures égyptiennes, datant des Pharaons, auraient germé normalement, toutes les graines authentiques ayant cette origine sont mortes, elles présentent un embryon bruni, détaché de l'albumen, et ne présentent plus les réactions relatives aux peroxydases qu'on peut réaliser avec des graines normales et vivantes (GAIN). Il s'est donc effectué dans ces semences des modifications chimiques, que celles-ci aient été ou non accompagnées d'échanges gazeux.

Par contre, de vieux herbiers ont fourni des graines qui ont germé au bout des nombres d'années suivants (BECQUEREL) :

Blé	140 ans	Cytise	84 ans
Haricot	100 »	Stachys	77 »
Cassia	87 »	Lavatère	74 »

Il est évident que cette grande longévité des graines ne peut correspondre qu'à de très faibles échanges respiratoires s'ils existent.

Il s'agit d'ailleurs d'exceptions assez rares, et dans les conditions naturelles la plupart des graines sont incapables de germer au bout d'un nombre d'années beaucoup plus restreint qui, pour certaines, se réduit à un an ; pour plusieurs espèces de plantes tropicales la faculté germinative peut même disparaître au bout d'une ou deux semaines.

d. Action des divers facteurs extérieurs sur l'intensité respiratoire

Température. — Parmi les conditions extérieures qui interviennent pour modifier l'intensité respira-

toire d'un végétal donné ou d'un organe déterminé, la température est la plus importante à considérer, il nous suffira pour nous en rendre compte de considérer les nombres suivants qui expriment le volume (cm³) ou le poids (mg) de gaz carbonique dégagé par unité de volume (cm³) de substance fraîche et par heure (BONNIER et MANGIN)

Polyporus versicolor		Tabac (feuilles)	
10°	1 cm³ 81	7	0 mg 03
15	3 » 75	14	0 » 10
25	6 » 22	20	0 » 26
35°	9 » 58	32	0 » 51
		40°	1 » 13
		42	1 » 32

On obtient de même pour les feuilles de Ronce les rapports suivants de l'intensité respiratoire à une température donnée à cette même intensité à 2° (M[illegible])

2°	1	29°	8,0
11°	3	37°	14,4
20°	4,8	46°	26,4

Rapportons encore les valeurs correspondant à l'intensité respiratoire (mg par heure et gramme de substance fraîche) chez des plantules étiolées de Blé (RISCHAVI)

5° C	3,30	30° C	22,04
10° »	5,28	35° »	28,38
15° »	9,90	40° »	37,60
20° »	12,54	45° »	37,80
25° »	17,82		

Les courbes qui traduisent ces résultats ont toujours la même allure et ont une forme parabolique L'intensité augmente graduellement avec la température jusqu'à ce que soit atteinte la température mor-

telle, il n'y a donc pas de température optima correspondant à un maximum du phénomène respiratoire, la courbe rappelle celle de Van t'Hoff exprimant la relation entre l'intensité d'une réaction chimique et la température.

Pour des températures voisines de 0° et au-dessous la respiration est généralement très faible et échappe aux mesures, cependant la respiration est encore sen-

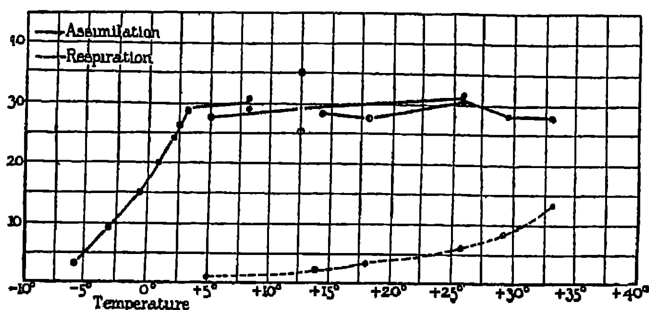


Fig. [illegible] — Courbes permettant de comparer les intensités respiratoire et assimilatrice des feuilles de Laurier Cerise à différentes températures (Blackmann).

sible pour les Lichens et l'*Epicea* à — 10°. Lorsqu'on opère d'autre part aux températures élevées il est essentiel de s'assurer que l'organe en expérience n'a pas souffert et que, ramené à une température moyenne, il reprend la même intensité respiratoire que précédemment. Des Lichens ont pu supporter une température de 45° pendant trois jours et même de 50° pendant quinze heures sans être altérés.

Il est intéressant de comparer l'action qu'exerce la température sur la fonction respiratoire et sur l'assi-

milation chlorophyllienne, les courbes reproduites par la figure 22 (BLACKMANN) montrent qu'aux basses températures la photosynthèse est assez intense alors que la respiration est très faible et permettent de comprendre comment, pendant la saison froide, les feuilles persistantes peuvent présenter au total un gain appréciable en carbone.

La température n'intervient pas seulement par le degré qui en est réalisé à un moment donné, mais aussi par l'état antérieur de ce facteur, d'une manière générale tout changement brusque de température amène une élévation de la respiration. Prenons par exemple (PALLADINE) trois lots de tiges étiolées de Fève placées sur une solution sucrée et abandonnés à trois températures différentes 10°, 18° et 36°. Au bout de quelques jours on soumet les trois lots à la température moyenne de 18° et on mesure leur intensité respiratoire, on constate qu'elle est respectivement représentée par les trois nombres qui suivent (mg de gaz carbonique dégagé par heure et gramme de substance fraîche).

Température antérieure	Gaz carbonique dégagé à 18°
—	—
10°	0,78
18°	0,56
36°	0,85

Il y a eu augmentation de l'intensité respiratoire aussi bien pour les feuilles qui étaient primitivement à une température de 36° que pour celles qui ont passé de 10° à 18°.

Lumière. — Nous avons déjà fait allusion à l'action retardatrice de la lumière sur la respiration des organes végétaux dépourvus de chlorophylle, c'est

ainsi que la respiration du *Psalliota campestris* est de 1 à la lumière diffuse alors qu'elle est de 1,37 à l'obscurité, de même des graines de Lupin en voie de germination ont une respiration représentée par 1 à la lumière diffuse et par 1,28 à l'obscurité. Il est naturellement nécessaire dans ces expériences de se mettre à l'abri de toute variation de température et c'est surtout pour cette raison qu'on a surtout opéré à la lumière diffuse ; si on emploie la lumière directe, il est nécessaire de maintenir la température constante à l'aide d'un courant d'eau.

Les diverses radiations constituant la lumière blanche n'agissent pas toutes de la même manière ; en se servant de cloches à double paroi, contenant soit une solution de bichromate de potassium, soit une dissolution ammoniacale d'oxyde de cuivre, on constate que sous la première la respiration est représentée par 1, sous la seconde par 1,24 pour le Champignon de couche ; ces deux nombres sont compris entre ceux qui correspondent à la respiration à la lumière blanche et à l'obscurité, la lumière rouge a donc une influence retardatrice plus grande que la lumière bleue.

Ce résultat a pu être vérifié par l'emploi du spectre (BONNIER et MANGIN) dans les différentes régions duquel on met à respirer un même organe ; on obtient ainsi les résultats qui suivent :

Région du spectre	Gaz carbonique dégagé
—	—
Vert-bleu	4,1[illegible]
Jaune-rouge	3,38
Vert-bleu	4,04
Jaune-rouge	3,18
Obscurité	4,31

Pression de l'oxygène — Le phénomène respiratoire n'a pas besoin pour se produire d'une manière normale de la pression qui est réalisée pour l'oxygène de l'atmosphère, si on vient à diminuer cette pression jusqu'au 1/5e l'intensité respiratoire reste inchangée (FRIEDEL), quand la pression devient inférieure à cette dernière valeur la quantité de gaz carbonique dégagé ne varie guère, mais on constate que le volume d'oxygène absorbé diminue dans de grandes proportions, nous sommes alors en présence d'un phénomène différent du phénomène respiratoire normal et que nous envisagerons bientôt

DEHÉRAIN et MAQUENNE ont montré de leur côté que des graines sont encore capables de germer lorsqu'elles n'ont à leur disposition que de l'oxygène dissous dans l'eau, ces graines étant placées dans un tube dont l'eau est constamment renouvelée par un courant assez lent, celles qui sont situées près de l'arrivée de l'eau germent aisément alors que celles qui sont à l'autre extrémité ne germent que difficilement ou pas du tout, d'autre part il n'y a pas de germination pour des graines immergées dans l'eau au repos, alors même que l'épaisseur du liquide ne dépasse pas quelques millimètres

Il en va de même pour la respiration des feuilles qui ne s'effectue plus lorsque ces organes sont immergés, alors qu'elle subsiste longtemps chez des feuilles flottant à la surface de l'eau (MAQUENNE et DEMOUSSY) Les auteurs ont utilisé, comme critérium de la respiration dans ces diverses conditions, la teinte noire que prennent diverses feuilles, par exemple celles d'*Aucuba japonica* lorsque, pour une raison quelconque, elles

viennent à mourir, cette coloration est due à la perte de turgescence des cellules, permettant la diffusion de substances contenues normalement dans des éléments cellulaires différents, et en particulier de l'aucubine et de l'émulsine qui, réagissant l'une sur l'autre, donnent naissance à une substance noire.

Or des feuilles d'*Aucuba* placées à l'obscurité à la surface de l'eau gardent leur teinte verte très longtemps, deux mois par exemple; immergées dans une épaisseur de 4-5 millimètres d'eau elles noircissent au contraire au bout de 3-4 jours par asphyxie. Les choses changent du reste complètement d'aspect quand l'expérience est faite à la lumière; le gaz carbonique émis par la respiration est alors repris par la fonction chlorophyllienne et de l'oxygène reste constamment à la disposition de la feuille pour les besoins respiratoires; la chlorophylle détermine une aération au même titre qu'une circulation d'eau continue.

Si on vient au contraire à augmenter la pression de l'oxygène les végétaux manifestent une activité respiratoire plus considérable, qui devient d'ailleurs rapidement nocive (JOHANNSEN).

Actions diverses de substances chimiques. — Un assez grand nombre de substances chimiques ont une action très nette sur l'intensité de la respiration; nous verrons qu'il en est ainsi pour les sucres, et plus généralement pour toutes les matières qui sont précisément brûlées dans le phénomène considéré; mais signalons de suite qu'à côté de leur nature chimique leur degré de concentration peut intervenir. KOSINSKI et PALLADINE ont signalé à cet égard l'action du saccha-

rose, si on vient à transporter des feuilles étiolées de Fève d'une solution concentrée de sucre dans une autre plus étendue on assiste à une augmentation dans l'intensité et inversement, comme en témoignent les nombres qui suivent

Concentration en saccharose	CO_2 dégagé (mg)
15 %	122,7
25 %	79,4
50 %	69,7
0	104

Plusieurs substances minérales, qui n'interviennent pas directement dans le phénomène respiratoire, sont également capables de modifier l'intensité de la respiration, au nombre de celles-ci il convient de signaler les phosphates (IWANOFF), nous verrons le rôle important que jouent ces sels dans la fermentation alcoolique et l'explication du mécanisme de leur intervention dans ce dernier phénomène nous renseignera par là même sur la manière dont on peut concevoir que leur action s'exerce à l'égard de la respiration

Actions accidentelles — Parmi les facteurs qui n'ont qu'une importance accidentelle signalons celui qui correspond aux blessures, chaque fois qu'un organe est sectionné il se produit une grande augmentation de la respiration dans le temps qui correspond au phénomène de cicatrisation C'est ainsi que de petits tubercules de Pomme de terre coupés en quatre dégagent, par heure, à partir du moment où on les a sectionnés, les quantités suivantes (*mg*) de gaz carbo-

nique rapportées à 100 grammes de substance fraîche (Richard)

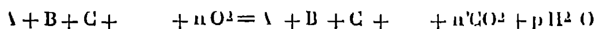
	CO_2 dégagé
Avant le sectionnement	1
2 heures après le sectionnement	4,5
5 — — —	7,2
9 — — —	8,4
28 — — —	9,3 (maxim.)
51 — —	6,8
4 jours —	1,6
6 — — —	0,8

On peut rapprocher de cette accélération de la respiration celle qui se produit sous l'action de substances toxiques, c'est ainsi que les anesthésiques (éther, chloroforme), l'alcool, les alcaloïdes (strychnine, atropine, cocaïne), l'antipyrine, les sels de cuivre qui sont toxiques à des doses peu élevées, déterminent à des doses moindres une augmentation sensible de l'intensité respiratoire, une sorte de fièvre. L'éther à 2 p. 100 fait passer cette intensité de 1 à 2, le chlorhydrate de strychnine à 0,5 p. 100 de 1 à 2,3 (Morkowine et Zaleski), de même encore l'alcool isobutylique ajouté dans la proportion de 1 p. 100 à une solution de saccharose détermine chez des plantules de Fève une intensité respiratoire trois fois plus considérable.

4. Quotient respiratoire

Nous n'avons considéré dans ce qui précède que le dégagement du gaz carbonique que nous avons pris comme critérium de l'intensité du phénomène étudié, mais il convient de tenir compte aussi de l'oxygène absorbé, car il n'existe pas de rapport constant entre

les volumes des deux gaz échangés, le quotient de ces volumes $\frac{CO^2}{O^2}$, désigné sous le nom de quotient respiratoire, doit *à priori* nous donner des renseignements importants sur la nature des réactions dont les échanges gazeux respiratoires sont la conséquence. Nous avons déjà fait pressentir que les substances qui sont oxydées dans la cellule végétale sont variées; si on les désigne par A, B, C..., l'ensemble des réactions constituant le phénomène respiratoire est représenté par



$$A + B + C + \ldots + nO^2 = A' + B' + C' + \ldots + n'CO^2 + pH^2O$$

En admettant que l'oxydation des diverses substances s'effectue toujours de la même manière le quotient respiratoire $\frac{n'}{n}$ dépendra déjà de la proportion de ces substances, mais d'autre part chacune d'elles peut subir une oxydation plus ou moins profonde suivant les conditions et par suite les substances A', B', C'... sont variables, ce qui entraîne encore une modification dans la valeur de $\frac{n'}{n}$; nous n'allons pas tarder à rencontrer des exemples concrets de telles variations.

a. Mesure du quotient respiratoire

La méthode de l'air renouvelé qui nous a servi à déterminer l'intensité du phénomène respiratoire ne permet d'évaluer avec précision que le gaz carbonique dégagé; théoriquement on peut concevoir que l'analyse eudiométrique de l'atmosphère où a respiré une plante

et qui a fixé son gaz carbonique sur un alcali puisse, comparée à celle de l'air normal qu'on a fait circuler, nous renseigner sur la quantité d'oxygène qui a disparu mais en pratique le volume de gaz qui a passé dans l'appareil est très grand il en résulte que la composition en oxygène de l'atmosphère qui a servi à balayer le gaz carbonique est très voisine de celle de l'air ordinaire, et une légère erreur dans l'analyse eudiométrique est multipliée par un nombre si grand que les résultats obtenus n'ont guère de valeur Il est donc nécessaire de s'adresser, pour avoir une mesure exacte du quotient respiratoire, à une autre méthode qui donne avec une même approximation les valeurs de l'oxygène fixé et du gaz carbonique dégagé

Méthode de l'air confiné — On a souvent employé pour cet objet la méthode dite de l'air confiné, la figure 23 représente l'appareil utilisé par Bonnier et Mangin, il consiste essentiellement en une cloche adaptée exactement sur une glace rodée et dans laquelle sont placées les plantes dont on veut évaluer les échanges respiratoires A l'aide d'un appareil à prises on peut prélever de petites portions de l'atmosphère dont on fait l'analyse à l'aide de la méthode eudiométrique, nous avons parlé de cette méthode précédemment, à propos de l'assimilation chlorophyllienne, d'autre part, il est possible, par un dispositif que la figure fait facilement comprendre, d'introduire, lorsque cela devient nécessaire, de l'air normal dans l'appareil On obtient la valeur des gaz échangés en comparant les résultats donnés par l'analyse avec la composition de l'air normal primitif et en mesurant le volume V du vase Si au début de

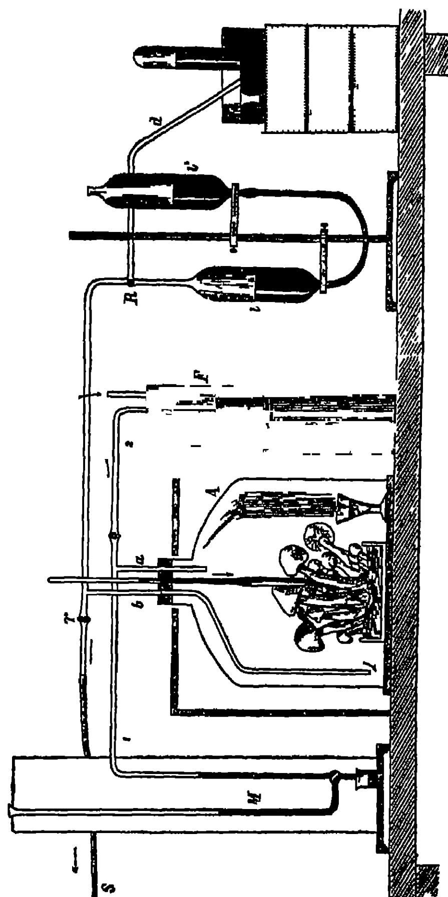


Fig. 73. — Appareil de Bonnier et Mangin permettant d'évaluer les échanges gazeux respiratoires en atmosphère confinée

l'expérience la pression initiale de l'atmosphère interne est égale à la pression extérieure H et qu'en prélevant un volume v à cette même pression, il en résulte une diminution h de pression à l'intérieur du vase, évaluée par le manomètre M, on a

$$Vh = vH \qquad \text{d'où} \qquad V = v\frac{H}{h}$$

Pour de petits organes tels que des feuilles on remplace souvent la cloche par un petit tube de verre épais renversé sur le mercure, on a soin de disposer une mince couche d'eau à la surface du mercure interne, de manière à éviter l'action nocive des vapeurs mercurielles, on peut prélever aisément à diverses reprises une partie de l'atmosphère de ce tube en portant directement celui-ci sur la cuve eudiométrique

Mais nous avons déjà fait observer que les résultats obtenus à l'aide de cette méthode se trouvent entachés d'une cause d'erreur résidant dans la grande solubilité du gaz carbonique dans l'eau, cette solubilité est environ 30 fois plus grande que celle de l'oxygène, si la composition de l'atmosphère varie beaucoup et si le volume des organes mis à respirer est assez grand par rapport à celui de l'atmosphère, l'état final de l'atmosphère cesse d'être comparable à l'état initial, avec certaines précautions on peut employer la méthode indiquée lorsqu'il s'agit de comparer les valeurs du quotient respiratoire d'un même organe dans des conditions différentes, mais elle ne peut nous donner avec exactitude la valeur absolue du quotient respiratoire dans des conditions définies

Maquenne et Demoussy ont étudié récemment d'une manière systématique les différentes méthodes déjà

employées et en ont proposé un certain nombre de nouvelles ; je résumerai rapidement leur travail.

Les auteurs montrent tout d'abord que le quotient respiratoire mesuré par la méthode de l'air confiné sous pression variable, que nous venons d'envisager, et qu'ils appellent *quotient respiratoire apparent* se trouvent être représenté par l'expression

$$R = \frac{1 - \delta}{1 - \delta + c\delta}$$

en supposant que le quotient respiratoire réel des gaz échangés soit égal à l'unité ; c est le coefficient d'absorption du gaz carbonique par les organes expérimentés et δ la densité de charge, c'est-à-dire le rapport du volume des organes au volume du vase dans lequel ils sont enfermés. On voit que le quotient respiratoire apparent est plus petit que le quotient respiratoire réel ; si on fait $c = 2$ et $\delta = \frac{1}{20} = 0{,}05$ on voit qu'au lieu de l'unité on obtient une valeur de 0,90 pour le quotient respiratoire apparent.

Maquenne et Demoussy ne se sont servis de la mesure des quotients respiratoires apparents que pour évaluer les valeurs du coefficient d'absorption du gaz carbonique par les tissus végétaux.

Mesure des quotients respiratoires apparents. — Parmi les méthodes employées par les auteurs deux surtout ont donné des résultats satisfaisants et concordants.

Méthode du retournement sous pression constante. — Deux tubes identiques sont disposés parallèlement dans un bain d'eau et reliés entre eux par leurs

extrémités effilées et recourbées. Dans l'un A, qui est constitué par deux parties s'ajustant à l'émeri, on place les organes à étudier; l'autre B est rempli de mercure; quand l'expérience a suffisamment duré on retourne tout l'appareil dans l'eau; du mercure passe de B en A et se trouve remplacé par une partie de l'atmosphère de A, sans qu'il se produise de changement dans la température ni dans la pression; on procède à l'analyse de l'atmosphère ainsi recueillie.

Méthode de la prise instantanée sous pression variable. — Elle consiste à prélever par aspiration une petite partie de l'atmosphère confinée où respirent les organes; l'expérience a montré que si cette prise est rapide (2 à 3 minutes) on se trouve à l'abri de tout dégagement gazeux, en particulier de gaz carbonique, à partir des organes; cette méthode se trouve être la plus simple et permet de faire de nombreuses expériences dans un temps assez court.

Mesure des quotients respiratoires réels. — Mais ce qu'il importe le plus de connaître ce sont les quotients respiratoires réels; il est pour cela absolument nécessaire que les organes se trouvent exactement, au point de vue des gaz qui s'y sont dissous, dans le même état au début et à la fin de chaque expérience. MAQUENNE et DEMOUSSY ont employé surtout pour y arriver les deux méthodes suivantes dont je me contenterai d'indiquer ici le principe.

Méthode du vide. — Des feuilles sont enfermées dans un tube de 50 cm³ environ; ce tube est muni d'un robinet bien hermétique à l'une de ses extrémités et bouché à l'autre bout par une plaque de

verre soigneusement mastiquée. On fait le vide, on laisse ensuite rentrer de l'air et on abandonne dans un bain d'eau à température constante, l'expérience terminée on extrait les gaz à l'aide d'une trompe à mercure, les auteurs ont montré que le premier vide réalisé ne trouble pas la valeur du quotient respiratoire, mais que le second vide n'extrait pas la totalité du gaz carbonique des organes un peu épais, aussi se sont-ils adressés de préférence à une seconde méthode.

Méthode du déplacement. — Elle consiste essentiellement à déplacer les gaz de la respiration par un courant d'air, mais assez lent pour que la composition de l'ensemble de ces gaz reste très différente de celle de l'air normal et de vitesse telle que cette composition reste à très peu près constante. De cette manière se trouve encore réalisée l'identité entre les états initial et final et on peut admettre que la quantité de gaz carbonique qui se trouve dissous reste constamment la même, c'est là en somme une modification de la méthode de l'air renouvelé.

Les feuilles sont placées dans un tube horizontal disposé dans un bain d'eau à température constante (fig. 24), la circulation gazeuse est réalisée par un propulseur hydraulique assurant une circulation constante et les gaz sont recueillis dans un autre tube communiquant avec l'extérieur par un long tube de caoutchouc fermé à son extrémité par de l'ouate, à la fin de l'expérience on analyse l'atmosphère contenue dans le deuxième tube.

Les deux méthodes ont donné des résultats identiques quand il s'agit de feuilles très perméables, quand ces organes sont au contraire épais ou âgés la

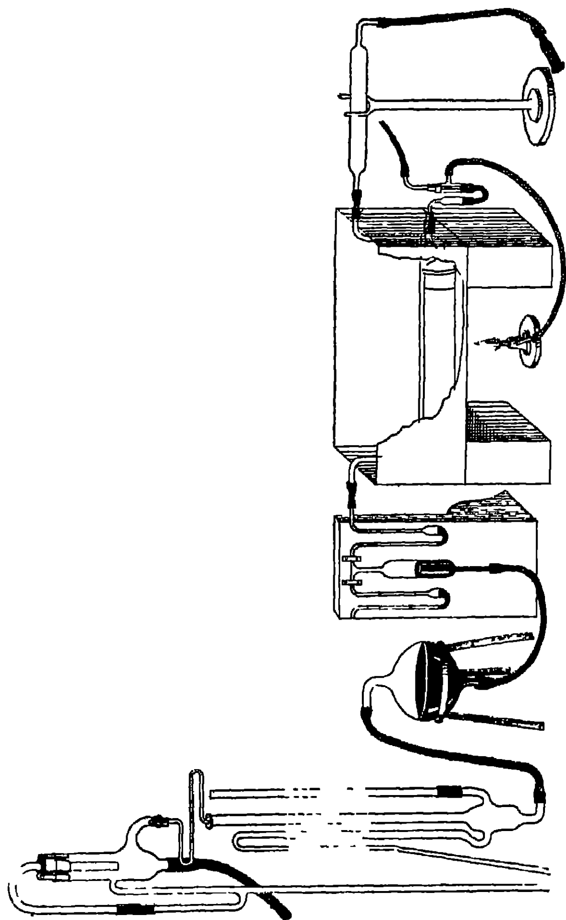


Fig. 24. — Appareil correspondant à l'emploi de la méthode du déplacement en vue de la détermination du quotient respiratoire réel (Maquenne et Demoussy).

méthode du déplacement donne pour $\frac{CO^2}{O^2}$ des nombres plus élevés que celle du vide et ce sont les nombres qui doivent être choisis, car ceux qui sont fournis par la première méthode correspondent à une extraction imparfaite du gaz carbonique.

b. Valeur du quotient respiratoire présenté par les feuilles

Les recherches de Maquenne et Demoussy ont uniquement porté sur les organes foliaires et je transcris ici un certain nombre de valeurs présentées par le quotient respiratoire de ces organes, mis à respirer à l'obscurité ; l'expérience a montré qu'en opérant sur des feuilles détachées de la plante il est nécessaire d'opérer aussi rapidement que le permet la méthode employée pour obtenir une valeur du quotient respiratoire représentant bien celle que la feuille présente quand elle attient à la tige ; les nombres rapportés ont été obtenus par la méthode du déplacement.

Aucuba	1,15	Troène	1,05
Lierre	1,08	Lis	1,06
Lilas	1,10	Rosier	1,04

On voit que le quotient respiratoire est pour toutes ces feuilles supérieur à l'unité mais voisin de l'unité ; il s'agit ici de feuilles encore jeunes, en plein fonctionnement normal ; Maquenne et Demoussy sont amenés par ce résultat à considérer que la respiration des feuilles en pleine croissance apparaît comme une fonction réductrice et qu'il n'en résulte pas pour les cellules, comme on l'avait admis antérieurement d'après

la considération des quotients respiratoires apparents, qui sont eux le plus souvent inférieurs à l'unité, une augmentation dans la teneur en oxygène

Les choses peuvent d'ailleurs être différentes dans un certain nombre de cas, c'est ainsi que lorsqu'on s'adresse à des feuilles qui sont pauvres en substances sucrées l'intensité de la respiration décroît rapidement avec le temps et on observe simultanément un abaissement de la valeur du quotient respiratoire, ce phénomène se produit en particulier pour des feuilles qu'on conserve un temps assez considérable à l'obscurité, on observe par exemple pour le quotient respiratoire les nombres suivants, se rapportant à des temps d'exposition différents à l'obscurité

	Durées d'exposition à l'obscurité (heures)	Quotient respiratoire réel
Troène	16	1,02
	41	0,88
Fusain	1	1,10
	7	0,94
Chou-rave	1	1,14
	6	0,90

D'autre part, le même phénomène de la valeur du quotient respiratoire se retrouve chez les feuilles âgées et vraisemblablement pour la même cause d'épuisement, c'est ainsi que pour les feuilles du Marronnier d'Inde on trouve pour le quotient respiratoire 1,02 de mars à mai et 0,92 de juin à la chute des feuilles

Ces résultats peuvent se vérifier par une méthode manométrique différentielle consistant à évaluer les variations de pression qui se produisent dans un vase fermé où sont mises à respirer des feuilles, la température étant maintenue constante, on ne peut

d'ailleurs tirer de conclusions de ces observations, relativement à la valeur du quotient respiratoire réel, qu'en faisant la théorie complète de la méthode, puisque la dissolution du gaz carbonique intervient dans les variations de pression au même titre que l'inégalité possible des volumes du gaz réellement échangés

Deux tubes d'égal volume V sont disposés parallè-

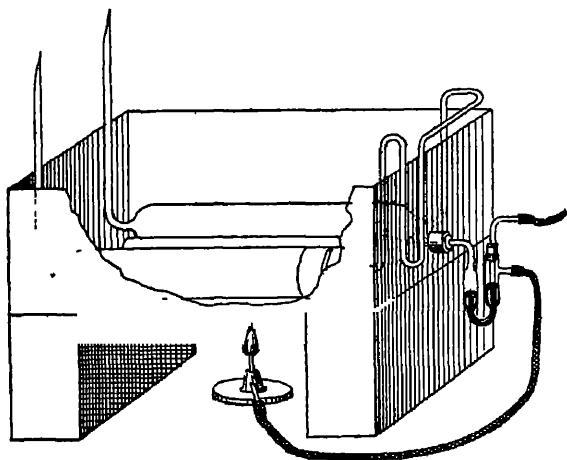


Fig. 25. — Méthode manométrique différentielle permettant d'évaluer les changements de pression résultant de la respiration en vase clos (Maquenne et Demoussy)

lement dans un bain d'eau à température constante (fig. 25), ils communiquent avec les deux branches d'un tube en U servant de manomètre à eau, dans l'un de ces tubes on place les feuilles à respirer, dans

l'autre, on met un peu d'eau destinée à maintenir l'atmosphère saturée

Le calcul montre que la dénivellation h qui se produit représente la valeur suivante

$$h = \Pi \frac{k\delta t \left[(R - 1)(1 - \delta) - c\delta\right]}{V(1 - \delta)(1 - \delta + c\delta)}$$

Π étant la pression initiale, R le quotient respiratoire réel, c et δ ayant la même signification que précédemment, k étant l'intensité respiratoire

Pour la plupart des feuilles, on constate ainsi directement que le quotient respiratoire réel est plus grand que l'unité, mais pour des feuilles jeunes, s'épuisant vite, le quotient d'abord supérieur à l'unité lui devient inférieur la pression augmente tout d'abord, puis diminue au contraire

Pour des feuilles qui sont peu perméables on observe un phénomène inverse, la pression commençant par diminuer pour augmenter ensuite, cela doit tenir à l'établissement d'une sursaturation interne

Ce n'est que dans les feuilles âgées qu'on observe une diminution constante de la pression

c Variations de la valeur du quotient respiratoire

D'une manière générale les facteurs extérieurs, que nous avons vus influer sur l'intensité de la respiration, n'interviennent pas vis-à-vis du quotient respiratoire, c'est ainsi que la lumière se montre sans action à cet égard, de même les variations de température n'influent pas ordinairement sur la valeur du quotient respiratoire, comme en témoignent les expériences de

Bonnier et Mangin sur le *Psalliota campestris* et présentant une durée d'une heure

	Gaz carbonique	Oxygène	CO^2/O^2
	—	—	—
14°	0,42	0,76	0,55
28	4,16	7,35	0 55
35	5,60	9,88	0,56

Alors que l'intensité respiratoire est fortement influencée par la température, le rapport des volumes des gaz échangés reste constant

Lorsque les facteurs extérieurs agissent sur la valeur du quotient respiratoire, c'est dans la mesure où ils sont susceptibles d'agir sur la nature même des réactions chimiques dont dépendent les échanges gazeux étudiés Les expériences de Puriewitsch, effectuées sur des Haricots en voie de germination depuis deux jours et mis à respirer pendant vingt heures à différentes températures, ont donné pour le quotient respiratoire des valeurs très différentes, contrairement à ce qui se passe pour les chapeaux de *Psalliota*

Température	CO^2/O^2
—	—
6°	0,53
18°	0,72
35°	0,99

Il est très vraisemblable que la température agit ici pour accélérer les réactions chimiques qui se passent dans les plantules et en modifier la nature, faisant ainsi passer rapidement la jeune plante à un stade plus avancé de son développement

C'est donc *à priori* la composition chimique des organes considérés qui doit avoir une importance prépondérante dans la valeur du quotient respiratoire,

celui-ci n'est constant que pour un organe donné d'une espèce végétale et considéré à un état de développement lui-même défini. Cessons de considérer les feuilles d'un végétal adulte et considérons le quo-

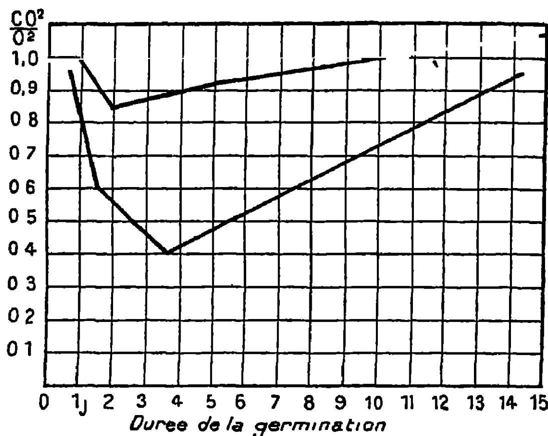


Fig. 26. — Courbes représentant les variations de la valeur du quotient respiratoire lors de la germination du Blé (courbe supérieure) et du Lin (courbe inférieure).

tient respiratoire évalué au cours du développement d'une plante annuelle.

Prenons comme exemple le Lin, étudié à ce point de vue par Bonnier et Mangin.

Le quotient respiratoire présenté par les graines en voie de germination est d'abord voisin de 1, mais devient très vite assez faible, passe par un minimum sensiblement égal à 0,7 (fig. 26), puis augmente progressivement pour reprendre pendant toute la période végétative une valeur voisine de l'unité ; il s'abaisse

de nouveau au moment de la floraison (0,85) pour devenir enfin supérieur à l'unité au moment de la formation des graines, la courbe du quotient respiratoire présente donc deux minima qui correspondent aux phases où l'intensité respiratoire est au contraire la plus grande

On observe des faits analogues, avec des variantes, pour beaucoup de plantes, chez le Tabac, la valeur du quotient respiratoire est encore minima au moment de la germination, mais augmente ensuite d'une manière continue jusqu'au vieillissement des feuilles

Phases	CO^2/O^2
Germination	0,54
Tiges feuillées	0,80
Tiges fleuries	0,87
Tiges avec jeunes fruits	0,9?
Feuilles âgées	0,77

Si nous nous adressons à une plante vivace à feuilles caduques, le *Sarothamnus scoparius* par exemple, on observe des variations analogues (BONNIER et MANGIN)

Décembre, branches sans feuilles	0,64
Février, branches avec bourgeons	0,8?
Mars, bourgeons éclos	0,88
Avril, tiges feuillées	0,84
Mai, tiges fleuries	0,80
Juillet, tiges avec fruits	0,77

Le quotient respiratoire présente un minimum pendant l'hiver et un maximum au moment de l'éclosion des bourgeons

Prenons comme dernier exemple le Fusain du Japon plante vivace à feuilles persistantes, il pré-

sente aux diverses époques les valeurs qui suivent pour le quotient respiratoire

Première année	Février,	bourgeons	0,85
	Mai,	Feuilles	0,84
	Août,	—	0,75
	Décembre	—	0,76
Deuxième année	Février,	—	0,79
	Mars,	—	0,97
	Avril	—	1
	Mai,	—	0,98
	Novembre,	—	0,76

Les feuilles présentent pour leur quotient respiratoire un minimum à la fin de chaque année et un maximum au printemps de la 2e année

D'une manière générale, il n'y a aucun rapport entre les valeurs de l'intensité et celles du quotient respiratoire, qui peuvent varier dans le même sens ou dans des sens différents L'explication de ces variations réside, comme nous l'avons déjà dit, dans la nature différente des réactions oxydantes, cette nature peut varier au cours du développement, non seulement parce qu'il peut s'agir de la transformation de substances différentes, mais même lorsqu'on se trouve en présence de la même substance subissant une oxydation, elle peut en effet s'oxyder d'une manière plus ou moins complète et de plus nous ne pouvons oublier qu'en même temps que s'effectue le phénomène respiratoire, il se produit des réactions synthétiques pouvant impliquer elles aussi des échanges gazeux et dont la nature et l'intensité sont susceptibles de varier au cours du développement

Il est très démonstratif à cet égard de rapprocher ce qui se passe dans un organe où domine une certaine

substance ternaire de ce qu'on observe lorsqu'on fournit isolément cette substance à une Moisissure comme source de carbone.

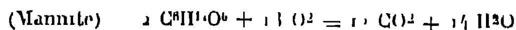
Utilisation des sucres. — Cultivons le *Sterigmatocystis nigra* sur une solution où l'aliment carboné est du glucose, nous constaterons que le quotient respiratoire est sensiblement égal à l'unité, comme le donne à penser la réaction qui aboutit à l'oxydation totale du glucose et à sa transformation en eau et gaz carbonique :



$$C^6H^{12}O^6 + 6\,O^2 = 6\,H^2O + 6\,CO^2$$

C'est également ce qui se passe lors de la germination des graines à réserves amylacées et c'est ce qu'on observe pour la plupart des feuilles qui brûlent essentiellement des hydrates de carbone dans leur respiration.

Avec d'autres substances sucrées le quotient respiratoire peut au contraire devenir sensiblement différent de l'unité ; le *Sterigmatocystis nigra* cultivé sur de la mannite ou de la glycérine présente pour le quotient respiratoire des valeurs voisines de 0,50 dans le premier cas, de 0,75 dans le second (Puriewitch) ; cependant si on envisage les réactions qui correspondent à la combustion complète des deux substances en question :



(Mannite) $$2\,C^6H^{14}O^6 + 13\,O^2 = 12\,CO^2 + 14\,H^2O$$

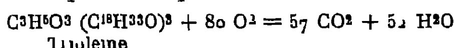


(Glycérine) $$2\,C^3H^8O^3 + 7\,O^2 = 6\,CO^2 + 8\,H^2O$$

les quotients respiratoires théoriques qui leur correspondent ne sont pas sensiblement différents de l'unité ; mais il y a lieu de faire observer qu'à côté de la pou-

tion de substance utilisée dans le phénomène respiratoire, et qui peut d'ailleurs ne pas subir une combustion complète, il en est une autre qui sert à construire le protoplasme, c'est-à-dire qui se trouve transformée en d'autres substances dont la formation implique des échanges gazeux différents de ceux que nous venons d'envisager, la comparaison des quotients respiratoires présentés par les Champignons avec le quotient des gaz échangés dans la combustion complète des aliments considérés ne peut donc être considérée que comme une indication, sous cette réserve adressons-nous à d'autres susbtances ternaires

Utilisation des huiles — Faisons par exemple une culture de *Sterigmatocystis nigra* sur un milieu contenant comme source de carbone de l'acide oléique, le quotient respiratoire devient sensiblement inférieur à l'unité, ce qui correspond à la réaction



$$C^3H^5O^3 (C^{18}H^{33}O)^3 + 80\ O^2 = 57\ CO^2 + 52\ H^2O$$

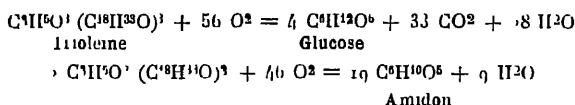
Trioléine

entraînant la valeur

$$\frac{CO^2}{O^2} = \frac{57}{80} = 0{,}7$$

C'est ce que nous avons précisément observé lors de la germination des graines oléagineuses du Lin Mais le quotient respiratoire varie avec les différentes périodes de la germination de telles graines, les phénomènes d'oxydation ne sont donc pas constants, et en fait la valeur du quotient respiratoire dépend ici à la fois 1° de la quantité de matière grasse complètement oxydée, 2° de la quantité d'huile transformée en sucres et 3° de la quantité de ces sucres participant au phénomène respiratoire

Au début de la germination le quotient respiratoire est voisin de l'unité parce qu'il s'agit surtout de l'oxydation de la quantité plus ou moins considérable des réserves hydrocarbonées accompagnant l'huile, puis il y a transformation de l'huile en matières sucrées et oxydation d'une partie des substances grasses, on peut admettre comme formules exprimant le premier phénomène les suivantes



$$C^3H^5O^3 (C^{18}H^{33}O)^3 + 56\ O^2 = 4\ C^6H^{12}O^6 + 33\ CO^2 + 28\ H^2O$$

Linoléine — Glucose

$$2\ C^3H^5O^3 (C^{18}H^{33}O)^3 + 46\ O^2 = 19\ C^6H^{10}O^5 + 9\ H^2O$$

Amidon

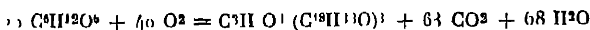
impliquant pour le quotient respiratoire des valeurs respectivement égales à $\frac{33}{56} = 0,59$ et 0

Que l'oxygène se porte donc sur la graisse pour la transformer en sucre ou pour la brûler complètement on aboutit toujours à un quotient respiratoire inférieur à l'unité

Dans la dernière période de la germination, il n'y a plus que des sucres qui soient oxydés et le quotient respiratoire redevient très voisin de l'unité, on arrive au même résultat (Porwzow) en plaçant des graines oléagineuses en voie de germination sur une solution de saccharose, on constate que le quotient respiratoire d'abord très sensiblement inférieur à l'unité se rapproche de cette valeur par suite de l'utilisation du sucre

Si nous considérons au contraire le rapport des volumes gazeux échangés par des graines ou des fruits oléagineux en voie de maturation, on se trouve en présence d'un quotient respiratoire supérieur à l'unité,

nous nous rappelons que ce fait est en rapport avec l'élaboration des huiles à partir des hydrates de carbone, la réaction

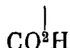


$$20\ C^6H^{12}O^6 + 40\ O^2 = C^3H^5O^3(C^{18}H^{33}O)^3 + 63\ CO^2 + 68\ H^2O$$

conduit à un quotient respiratoire égal à $\frac{63}{40} = 1,57$

Les données qui sont fournies par les échanges gazeux concordent donc bien avec les résultats que donne l'analyse des sucres et des huiles.

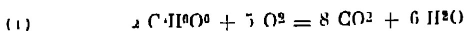
Rôle des acides organiques. — Reprenons le *Sterigmatocystis nigra* et cultivons-le sur une solution nutritive contenant comme source de carbone un acide organique tel que l'acide tartrique $CO^2H - (CHOH)^2 - CO^2H$, l'acide malique $CO^2H\ CHOH\ CH^2CO^2H$ ou l'acide citrique $CO^2H - CH^2 - COH - CH^2 - CO^2H$



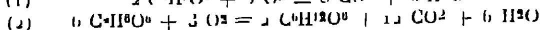
CO^2H (sur COH)

à 2 p. 100. Si on fait l'expérience à 30° on constate que le quotient respiratoire est élevé (2,49 pour l'acide tartrique) tant qu'il reste de l'acide dans le milieu nutritif ; lorsque l'acide a disparu on retrouve un quotient respiratoire voisin de l'unité, correspondant à l'oxydation des sucres fabriqués par le mycélium.

Il est nécessaire d'ailleurs, pour que l'acide soit consommé, que la température soit assez élevée ; à 15° il ne disparaît plus et le quotient respiratoire prend une valeur de l'ordre de 0,9. Dans cette expérience, l'acide tartrique est en partie brûlé et en partie utilisé pour la fabrication du sucre, suivant les deux réactions



$$(1) \qquad 2\ C^4H^6O^6 + 5\ O^2 = 8\ CO^2 + 6\ H^2O$$



$$(2) \qquad 6\ C^4H^6O^6 + 3\ O^2 = 2\ C^6H^{12}O^6 + 12\ CO^2 + 6\ H^2O$$

les quotients respiratoires correspondants à chacune de ces réactions sont de 1,6 pour (1) et de 4 pour (2), ce qui explique la valeur expérimentale que nous avons signalée.

C'est quelque chose de tout à fait comparable qui se passe pour les fruits acides qui présentent un quotient respiratoire supérieur à l'unité, souvent plus grand que 2, dans leur période de maturation, surtout si la température est assez élevée, or la réaction (1) ne permet pas à elle seule d'expliquer cette valeur, il faut donc admettre qu'il se produit une autre réaction, c'est précisément celle que nous avons écrite en (2), et en fait nous pouvons constater qu'au fur et à mesure de la disparition de l'acide les sucres augmentent dans un fruit détaché. Lorsqu'il s'agit de l'acide malique on peut même admettre qu'il y a production de sucre par simple dédoublement, sans fixation d'oxygène



$$2\ C^4H^6O^5 = C^6H^{12}O^6 + 2\ CO^2$$

ce qui entraîne une valeur infinie pour le quotient respiratoire.

Nous sommes de plus ici en présence d'un exemple très net d'une modification de la valeur du quotient respiratoire sous l'intervention de la température, ce facteur agit sur l'intensité d'une des réactions chimiques comprises dans le phénomène qu'on désigne globalement sous le nom de respiration et par là se trouve influer nettement sur le rapport des gaz échangés. On le montre aisément en exposant une Pomme détachée à des températures successives très

différentes, le quotient respiratoire prend les valeurs qui suivent

Température	CO^2/O^2
30	1 3
0	0 9
30	1 4
18°	1 0

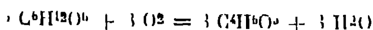
Lorsque le quotient devient égal ou inférieur à l'unité cela tient à ce que les acides ne sont pas transformés et en fait le fruit cesse de mûrir à des températures inférieurs à 18°

On retrouve dans les feuilles des plantes supérieures des phénomènes semblables à ceux qui sont présentés par une Moisissure à qui on fournit un acide organique comme source de carbone, leur suc cellulaire contient toujours en effet des acides organiques et une partie plus ou moins importante de ceux-ci existent à l'état libre ou à l'état de sels acides, l'évaluation de l'acidité correspondante, exprimée en centimètres cubes d'une solution de potasse décinormale pour 1 gramme de substance fraîche, est par exemple représentée par les nombres suivants (ASTRUC)

Vitis vinifera	19	*Mercurialis annua*	6
Rubus fruticosus	19	*Dahlia variabilis*	5
Ribes Grossularia	16	*Sempervivum tectorum*	4 7
Weigelia rosea	13	*Phaseolus vulgaris*	4
Evonymus europaeus	7	*Echeveria glauca*	3 8

Mais il y a lieu de tenir compte de la variation des acides sous l'influence de l'éclairement, ce sont surtout les plantes grasses, qui contiennent de l'acide malique, chez lesquelles cette variation s'observe avec netteté

De nombreuses recherches il résulte que les acides organiques augmentent très sensiblement pendant la nuit, nous verrons plus loin qu'on doit rapporter la formation des acides organiques à une oxydation incomplète des substances sucrées, la transformation du glucose en acide malique peut s'exprimer par la réaction



$$2\,C^6H^{12}O^6 + 3\,O^2 = 3\,C^4H^6O^5 + 3\,H^2O$$

qui n'implique pas de dégagement de gaz carbonique, il en résulte que le quotient respiratoire doit s'abaisser pendant la nuit et c'est bien ce que montre l'expérience, voisin de l'unité pendant le jour, il devient très faible pendant la nuit (de 0,6 à 0,1)

Je rapporterai par exemple les nombres suivants qui concernent l'*Echeveria glauca* (ASTRUC)

Numéro d'ordre des feuilles	Acide malique (mg) par gr. de substance sèche			CO^2/O^2
	le soir	le matin suivant	Différence	
3	2,5	2,6	0,1	0,98
5	2,0	3,0	1,0	0,77
7	2,0	3,0	1,6	0,72
9	1,4	3,0	1,6	0,71
11	1,2	2,9	1,7	0,40

Le quotient respiratoire est d'autant plus faible qu'il y a plus d'acide malique produit, sa valeur se trouvant être la résultante entre celle qui dérive de la réaction précédemment écrite et celle qui résulte d'une combustion complète d'une partie du sucre

Pendant le jour l'acide formé disparaît par une nouvelle oxydation



$$C^4H^6O^5 + 3\,O^2 = 4\,CO^2 + 3\,H^2O$$

Cette formule correspond à un quotient respiratoire égal à $\frac{4}{3} = 1,33$, mais le gaz carbonique produit est utilisé par la fonction chlorophyllienne et il se dégage sous forme d'oxygène, il en résulte que les plantes grasses placées à la lumière dans une atmosphère privée de gaz carbonique peuvent cependant dégager de l'oxygène

La lumière intervient dans cette désacidification, mais le phénomène est favorisé également par une élévation de température, si bien que si on met à respirer une feuille grasse à l'obscurité mais à une température assez élevée, on observe une augmentation du quotient respiratoire. PURIEWITSCH a trouvé par exemple les valeurs suivantes du quotient respiratoire à diverses températures

		$\frac{CO^2}{O^2}$
Sedum hybridum	10-12	0,37
	25-27	0,48
Pelargonium zonale	12-14°	0,54
	34-35	0,95

MANGIN a pu réaliser le même phénomène en injectant des acides organiques dans des feuilles de Fusain. C'est l'acide malique qui, dans ces conditions, fournit à l'obscurité le dégagement de gaz carbonique le plus abondant, viennent ensuite l'acide citrique, puis l'acide tartrique. A la lumière, le gaz carbonique produit est repris par l'assimilation chlorophyllienne et c'est de l'oxygène qui se trouve se dégager. En ce qui

concerne l'acide malique, le dégagement gazeux, déjà appréciable pour une solution à 1 p. 100, atteint son maximum pour une concentration de 3 p. 100, l'acide devenant toxique lorsqu'il est injecté à un taux plus élevé.

Pendant la journée, la décomposition des acides organiques, fournissant du gaz carbonique qui est utilisé par la fonction chlorophyllienne, aboutit en fin de compte à la formation d'une nouvelle quantité de sucre, si bien que l'acidification et la désacidification sont deux phénomènes indirectement réversibles ; à l'obscurité et à basse température on a



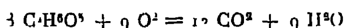
$$2\ C^6H^{12}O^6 + 3\ O^2 = 3\ C^4H^6O^5 + 3\ H^2O$$

à la lumière et à une température élevée, c'est la réaction suivante qui est réalisée



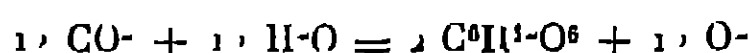
$$3\ C^4H^6O^5 + 3\ H^2O = 2\ C^6H^{12}O^6 + 3\ O^2$$

elle correspond elle-même aux deux réactions successives :



$$3\ C^4H^6O^5 + 9\ O^2 = 12\ CO^2 + 9\ H^2O$$

et



$$12\ CO^2 + 12\ H^2O = 2\ C^6H^{12}O^6 + 12\ O^2$$

Le rôle des acides organiques apparaît particulièrement clair chez les plantes grasses en raison des grandes variations journalières qu'ils subissent ; on s'est demandé s'il ne s'agissait pas d'un phénomène général et si les acides gras en particulier ne jouaient pas un rôle important dans le phénomène respiratoire.

Les sucres donneraient par oxydation tout d'abord naissance aux acides organiques et ce seraient ces derniers qui, en se décomposant, aboutiraient à un dégagement de gaz carbonique ; il existerait cons-

tamment, suivant cette vue, deux phases successives dans le phénomène respiratoire, la première correspondrait à une oxydation incomplète du sucre, amenant la formation d'un acide R CO^2H, dans la seconde l'acide se décomposerait en gaz carbonique et une substance R H qui serait un résidu acidifiable, c'est ainsi que dans une graine oléagineuse l'acide gras $CH^3(CH^2)^n$ CO^2H perd du gaz carbonique, puis le résidu s'oxyde, dégage une nouvelle molécule de gaz carbonique et ainsi de suite, l'acide gras subissant une dégradation successive

On constate en effet que les acides gras extraits d'une graine oléagineuse en voie de germination renferment d'autant plus d'oxygène que la germination est plus avancée, d'autre part la réaction



$$CH^3 (CH^2)^n CO^2H + O^3 = CH^3 (CH^2)^{n-1} CO^2H + CO^2 + H^2O$$

correspond à un quotient respiratoire égal à $\frac{2}{3} = 0{,}66$, qui est précisément le nombre obtenu par l'expérience (GODLEWSKI)

Nous aurons du reste à revenir encore sur le rôle des acides organiques dans le phénomène respiratoire

Rôle des pigments anthocyaniques — Plus généralement, chaque fois qu'il se produit dans une cellule une réaction qui implique des échanges gazeux d'oxygène et de gaz carbonique, le rapport des deux gaz échangés retentit sur le quotient respiratoire total, c'est encore le cas pour les pigments anthocyaniques que nous avons vus dériver des composés flavoniques, leur formation se trouve liée à l'accumulation de sucres dans les cellules et à la fixation d'oxygène Les

sucres peuvent augmenter dans les tissus par suite de circonstances très variées, froid, constriction ou décortication annulaire, attaque de parasites, nutrition artificielle aux dépens de substances sucrées ; d'autre part, il est aisé de constater que les pigments anthocyaniques ne se produisent plus quand l'oxygène est en quantité insuffisante ; enfin la lumière se montre nécessaire à leur formation.

La mesure directe des échanges gazeux qui s'opèrent à la lumière pour un organe chlorophyllien conduit à des valeurs du quotient résultant très différentes suivant qu'on s'adresse à des organes verts ou à des organes homologues dans lesquels s'élabore un pigment anthocyanique. COMBES a obtenu à cet égard les résultats très nets, dont je transcris ici quelques-uns :

		$\frac{CO^2}{O^2}$
Feuilles d'*Ampelopsis hederacea*	Vertes	1,01
	rouges	1,86
Feuille d'*Œnothera Lamarckiana*	Vertes	1,05
	Rouges (attaquées par un *Septoria*)	1,32
Feuilles de *Spiræa prunifolia* (décortication annulaire)	Vertes	0,90
	Rouges	1,23

Dans tous les cas, il y a fixation d'oxygène, puisque le volume d'oxygène dégagé diminue dans les feuilles rouges par rapport à celui du gaz carbonique décomposé.

Inversement quand le pigment anthocyanique disparaît dans un organe, ce qui arrive particulièrement chez les jeunes feuilles de certaines espèces qui sont rouges en sortant du bourgeon puis deviennent vertes, il s'effectue un dégagement supplémentaire d'oxygène,

en ce qui concerne l'Ailante le quotient résultant $\frac{CO^2}{O^2}$ passe de 0,25 pour une feuille rouge à 0,56 pour une feuille verte.

Ces résultats viennent donc confirmer toutes les expériences antérieures qui tendaient à voir dans la formation des pigments anthocyaniques un phénomène d'oxydation ; nous avons dit antérieurement que Combes avait réalisé la production expérimentale de certains pigments à partir de chromogènes incolores dans des conditions qui paraissaient impliquer une réduction ; la contradiction existant entre les deux sortes de résultats ne pouvait s'expliquer que par la création d'un milieu réducteur déterminé par des réactions oxydantes ; elle vient d'être levée par de nouvelles expériences de Koslowski et de Jonesco qui ont réussi à obtenir des pigments anthocyaniques à partir de chromogènes incolores par voie d'oxydation.

Influence de la concentration des substances nutritives. — Le quotient respiratoire est d'autre part influencé par la concentration des substances en présence desquelles se trouve le végétal, ce qui est l'indice d'un changement intervenant dans le chimisme sous l'action de ce facteur ; rapportons par exemple les nombres que Puriewitsch a obtenus en présence de concentrations variées de saccharose dans le cas du *Sterigmatocystis nigra*.

Concentration 0/0	CO^2/O^2
1	0,85
5	0,96
10	1,04
20	0,93
25	0,73

Avec d'autres substances ternaires on constate des ts tout à fait analogues et dont je rapporte quelques emples

Concentration	1 0/0	5 0/0	10 0/0	15 0/0
Glucose	0,9	1,06	1,18	0,73
Mannite	0,66	0,49	0,65	»
Tannin	0,91	0,50	0,43	»

Intervention des substances minérales dans la valeur quotient respiratoire — Ce ne sont pas seulement substances organiques qui peuvent influencer la eur du quotient respiratoire, il en est de même substances minérales, on sait que pour les plantes tes les sources des différents corps simples sont le is souvent constituées par des combinaisons très hes en oxygène, c'est ainsi que l'azote, le soufre, le osphore contenus dans les plantes dérivent des otates, des sulfates, des phosphates, à l'assimilation corps simples doit correspondre un phénomène de luction et par suite un dégagement d'oxygène qui id à diminuer la valeur du quotient respiratoire sultant de l'oxydation des substances ternaires, ns l'expérience que nous avons rapportée et dans quelle SCHLŒSING constatait un enrichissement en ygène d'une atmosphère confinée où se dévelop-ient des plantes vertes à la lumière, c'est à la réduc-on des sels minéraux que l'auteur attribuait ce énomène

On peut en donner une démonstration expérimen-e dans le cas des azotates, ce sera pour nous une casion de dire quelques mots d'une méthode indi-ecte de mesure du quotient respiratoire Pour ettre en évidence l'oxygène dégagé par la réduction

des azotates, il est nécessaire d'opérer pendant un temps très long, en raison de la faible quantité de ces sels décomposée dans le temps (quelques heures) qui suffit ordinairement à mesurer les volumes de gaz échangés, de plus la réduction des azotates ne s'effectue qu'à la lumière chez les plantes vertes. On est ainsi amené à évaluer le quotient respiratoire au cours du développement d'une plante entière et on peut y arriver de la manière suivante, sans avoir à renouveler la quantité de gaz carbonique fourni à la plante.

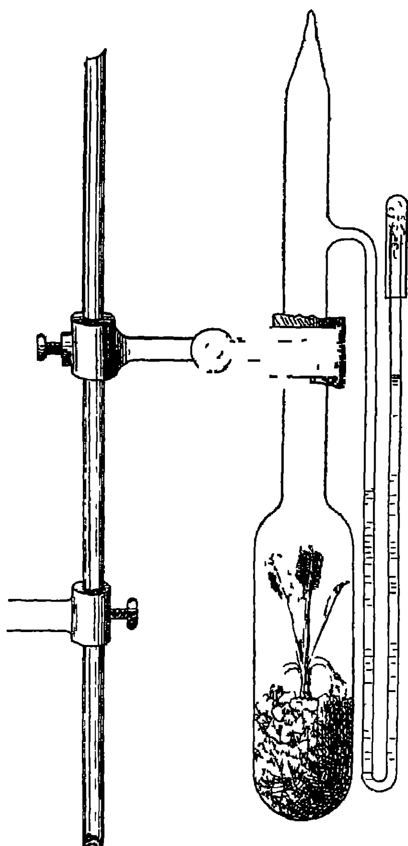


Fig. 27. — Tube de culture permettant d'évaluer le quotient respiratoire au cours du développement d'une plante verte.

Une plantule est mise à germer aseptiquement

dans un flacon (fig. 27) contenant de la ponce imbibée d'une solution nutritive à base de glucose, ce sucre permettra la croissance de la plante qui va se développer dans une atmosphère confinée, sur les côtés du long tube prolongeant le flacon est soudé un tube en U contenant du mercure et formant manomètre, quand le semis est effectué on ferme le col à la lampe

Pendant la nuit, il se dégage du gaz carbonique qui est ensuite décomposé pendant le jour, si les quotients de respiration et d'assimilation étaient tous deux égaux à l'unité on constaterait que les indications du manomètre sont exactement les mêmes, lorsque tout le gaz carbonique a disparu, c'est-à-dire peu de temps après le lever du soleil que celles qui sont fournies par un appareil semblable, dépourvu de plante et servant de témoin, pendant la nuit il y aurait au contraire une légère dépression dans l'appareil où la plante se développe, en raison de la grande solubilité du gaz carbonique dans le milieu nutritif

En fait, par des mesures effectuées quotidiennement vers le milieu de la journée, on observe que la pression va en croissant dans le tube où se trouve la plante et si, lorsqu'on arrête l'expérience, on effectue l'analyse de l'atmosphère, il est aisé de constater que celle-ci s'est enrichie en oxygène d'une quantité correspondant exactement à cette augmentation de pression. Si nous admettons, d'après ce que nous avons vu, que le quotient d'assimilation est égal à l'unité, l'expérience en question nous donne pour le quotient respiratoire une valeur $\frac{CO^2}{O^2} > 1$ puisque l'augmentation d'oxygène dans l'atmosphère confinée correspond à la

décomposition d'un volume de gaz carbonique plus grand que celui d'oxygène disparu

Ceci étant vrai quelle que soit la forme sous laquelle on fournit l'azote à la plante, faisons deux cultures parallèles de Radis dans les conditions que nous venons d'indiquer, mais en donnant l'azote à une plante sous forme de chlorure d'ammonium, à l'autre sous forme d'azotate, on constate que l'augmentation de pression est beaucoup plus considérable dans le second cas que dans le premier, il y a donc, en présence d'un nitrate, plus d'oxygène dégagé dans l'atmosphère, pour un volume de 180 centimètres cubes d'atmosphère, cet excès se traduit par exemple par une augmentation de pression de 12 centimètres de mercure au bout de six semaines, d'ailleurs la quantité supplémentaire d'oxygène dégagé peut être plus grande que celle qui est contenue dans l azotate assimilé, on est en présence d'une action catalytique (MOLLIARD)

Nous retrouverons des faits analogues pour les substances azotées organiques On voit en résumé à quel point est variable la valeur du quotient respiratoire qui ne fait qu'exprimer une résultante de réactions nombreuses auxquelles prennent part aussi bien des substances minérales que des substances organiques, souvent le quotient respiratoire est voisin de l unité, mais il peut prendre toutes les valeurs comprises entre o et l'infini, c'est ainsi qu'il se produit une absorption d oxygène sans dégagement corrélatif de gaz carbonique dans le cas de la formation d'acides à basse température aux dépens des sucres, nous ne tarderons pas à constater qu'inversement il peut s'effectuer un dégagement de gaz carbonique sans absorp-

ion correspondante d'oxygène, c'est ce qui se produit
lans le phénomène de la respiration intramoléculaire

Le quotient respiratoire n'a donc pas par lui-même
me signification facile à interpréter, il donne du
noins des indications utiles sur la nature des réactions
ntervenant d'une manière prédominante dans le com-
plexe respiratoire

5 Rôle des sucres dans la respiration

Pour en revenir aux substances organiques, nous
n'avons envisagé que l'intervention, dans le phéno-
nène respiratoire, de substances ternaires dérivant
plus ou moins directement des sucres et en fait ce
ont elles qui jouent le rôle essentiel dans les com-
ustions de la plante, en ce qui concerne du moins le
ôle passif Si nous mettons à respirer un rameau
ouillé à l'obscurité, il est aisé de constater que son
ntensité respiratoire va en décroissant et que ce sont
es hydrates de carbone qui disparaissent, si ce
ameau est replacé à la lumière, il fabrique de nou-
elles quantités de sucres et ceux-ci permettent à la
espiration de reprendre une intensité respiratoire
ormale

On arrive aux mêmes résultats en opérant compa-
ativement sur des feuilles étiolées pauvres en sucre
Fève) et dont on mesure l'intensité respiratoire sui-
ant qu'elles sont placées sur de l'eau pure ou sur
ne solution à 10 p 100 de saccharose, l'activité res-
iratoire passe de 1 à 1,65 (PALLADINE)

L'utilisation du glucose dans le phénomène respi-
atoire explique d'autre part le fait qu'à basse tempé-
ature les tubercules de Pomme de terre deviennent

sucrés, pour cesser de l'être quand on les expose à une température d'environ 20°, à toute température supérieure à 0° il s'effectue une digestion de l'amidon, d'où résulte la formation de glucose, mais si la température est assez élevée, le glucose disparaît au fur et à mesure de sa formation par oxydation, si au contraire la température est basse le phénomène respiratoire est très faible et le glucose formé s'accumule

L'intensité de la respiration n'est d'ailleurs pas proportionnelle à la quantité de sucre contenue dans les cellules et le maximum est atteint pour une teneur relativement peu considérable en hydrates de carbone, c'est ainsi que dans les organes en voie de croissance, où la respiration est très intense, il y a relativement peu de sucres, mais beaucoup de substances protéiques, celles-ci, qui restent en quantité sensiblement constante pendant la respiration, sont peut-être les agents qui déterminent l'oxydation des sucres Si on admet cette vue (PALLADINE), l'intensité respiratoire dépendrait de la quantité de substances protéiques actives contenues dans les cellules, de la quantité de sucres résulterait au contraire la valeur de la durée possible du phénomène respiratoire, les sucres et les autres substances ternaires seraient assimilables à la réserve de charbon d'une machine dont la puissance serait déterminée par la quantité de substances protéiques Nous verrons bientôt comment on peut concevoir d'autre part l'intervention de pareilles substances actives

Election des sucres dans le phénomène respiratoire — Tous les sucres qui sont fournis extérieurement à une cellule ou tous ceux qui sont dissous à son inté-

rieur interviennent-ils au même degré dans le phénomène respiratoire ? C'est une question qui s'est posée particulièrement en ce qui concerne le glucose et le lévulose provenant de l'inversion du sucre de canne ; nous avons déjà signalé que dans beaucoup de feuilles, c'est le cas pour celles de Betterave, les deux monosaccharides s'observent dans des rapports différents de celui qui caractérise le sucre interverti ; leur utilisation n'est pas quantitativement la même et il paraît bien que cela correspond à des rôles différents joués par les deux sucres réducteurs.

LINDET a montré que lors d'une formation active de tissus le glucose devient plus abondant que le lévulose, comme si celui-ci était spécialement utilisé à la constitution de nouvelles cellules et avait surtout un rôle plastique ; quand au contraire c'est le phénomène respiratoire qui l'emporte sur la formation cellulaire c'est le glucose qui est le plus abondamment utilisé et le lévulose qui s'accumule, le glucose remplirait plus spécialement le rôle d'aliment respiratoire.

LINDET a précisé ces faits en opérant sur des embryons en voie de germination, des plantules d'Orge, de Haricot, débarrassées de leur albumen ou de leurs cotylédons, étaient mises en présence de solutions de sucre interverti, dans des conditions aussi aseptiques que possible ; on constatait que le glucose disparaissait beaucoup plus rapidement que le lévulose ; le rapport du glucose au lévulose disparu était pour l'Orge égal à 1,36, pour le Haricot égal à 2,70.

Or nous avons appris que la respiration est très intense au moment de la germination ; d'autre part, si on vient à cultiver des plantules soit sur une solution

de glucose, soit sur une solution de lévulose, on constate que le poids de matière organique formée en présence de lévulose est beaucoup plus considérable qu'en présence de glucose, le rapport est en moyenne égal pour l'Orge à 2,08 ; ici encore il paraît bien que le glucose soit surtout utilisé pour la respiration et le lévulose pour l'édification de nouvelles cellules.

MAIGE et NICOLAS ont comparé de leur côté l'intensité du phénomène respiratoire présenté par des feuilles de Fève étiolées, immergées dans des solutions à 10 p. 100 de divers sucres ; les volumes de gaz échangés (cm³ par gramme de substance fraîche et par heure) ont été les suivants :

	CO^2	O^2	CO^2/O^2
	—	—	—
Glucose	1,75	1,31	1,34
Saccharose	1,73	1,28	1,35
Maltose	1,47	1,26	1,16
Lévulose	1,33	1,10	1,20
Lactose	1,05	0,96	1,09

L'intensité respiratoire est encore ici nettement supérieure pour le glucose, comparée en particulier à celle que réalise le lévulose, et nous retrouvons d'autre part de grandes variations du quotient respiratoire avec la nature du sucre.

Si on s'adresse au *Sterigmatocystis nigra*, on arrive à des résultats semblables ; le poids du mycélium obtenu est plus considérable en présence de lévulose qu'en présence de sucre interverti et plus grand dans ce dernier cas qu'avec le glucose ; inversement pour des quantités égales de sucre, il se produit une respiration plus considérable avec le glucose qu'avec le lévulose ; chacun de ces deux faits n'est d'ailleurs de

toute évidence qu'une conséquence de l'autre. On retrouve des résultats semblables pour les Levûres.

J'ai de mon côté apporté un nouvel argument en faveur de ces deux rôles différents revenant au glucose et au lévulose en ce qui concerne le *Sterigmatocystis nigra*, si on vient à diminuer dans de grandes proportions la croissance du mycélium, soit en ajoutant au liquide nutritif à base de saccharose une quantité assez considérable d'acide chlorhydrique, soit en ne fournissant qu'une dose insuffisante de la substance azotée, le sucre qui disparaît de beaucoup le plus rapidement est le glucose, on peut de la sorte arriver à ne plus avoir à un moment donné que du lévulose pur dans le milieu de culture, on obtient jusqu'à 36 p. 100 du lévulose initial, dans des conditions qui correspondent rapidement à une constance du poids du mycélium et où il n'y a plus qu'une utilisation du sucre pour le phénomène respiratoire.

6. Formation d'eau dans la respiration

Les formules que nous avons écrites pour traduire les diverses réactions oxydantes aboutissant à la formation de gaz carbonique impliquent la formation d'eau, on peut mettre celle-ci en évidence expérimentalement (Laskovsky), il suffit de faire germer dans un vase des graines (Courge) dont on a évalué le poids de matière sèche à l'aide de graines du même lot, on a mesuré d'autre part exactement le poids d'eau mise à leur disposition, on fait circuler dans l'appareil un courant d'air parfaitement sec et on arrête la vapeur d'eau qu'il entraîne par de l'acide sulfurique concentré, au bout d'un certain temps on évalue le poids

de la substance sèche ainsi que les poids de l'eau restant dans le vase et de l'eau fixée par l'acide sulfurique, on constate que la somme de ces poids est très nettement supérieure à celle qui correspondait au début de l'expérience, la différence représente le poids d'eau formée pendant la germination par oxydation des réserves

On a constaté de la sorte qu'il existe un rapport constant entre le gaz carbonique dégagé et la quantité d'eau formée, pour une même espèce de graine, lorsque l'intensité respiratoire varie, par exemple sous l'action de la température, ce fait, joint à la constance du quotient respiratoire, montre qu'il s'agit d'une réaction chimique dont la nature reste constante, mais dont l'intensité peut varier

7 Modifications apportées par la respiration dans la composition des tissus

La respiration vient de nous apparaître comme un phénomène de combustion aboutissant en particulier à la formation de gaz carbonique et d'eau, si donc on compare des organes sans chlorophylle et isolés, tels que des graines, à deux stades différents de leur développement, l'abaissement du poids de la substance sèche qu'ils subissent se trouve aisément expliqué, en effectuant l'analyse élémentaire de graines amylacées avant et après la germination on constate que l'azote et les cendres restent en quantité constante, mais que le carbone, l'hydrogène et l'oxygène subissent une diminution appréciable, les

mbres (mg) qui sont rapportés ci-dessous corres-
ndent à 46 grains de Blé (PALLADINE)

	Poids total de substance sèche	Carbone	Hydrogene	Oxygène	Azote	Cendres
aines	1665	758	95	718	57	38
antules	722	293	43	282	57	38
rte	943	465	52	436	0	0

Si on rapporte les quantités de carbone, d'hydro-
ne et d'oxygène au poids de substance sèche, on
otient

	Carbone	Hydrogene	Oxygene
Graines	45,5	5,7	43,1
Plantules	40,5	5,9	39

qui donne pour le rapport de l'oxygène au carbone
s valeurs de 0,94 au début et de 0,96 à la fin, c'est-
dire des nombres qu'on peut considérer comme
aux

Pour des grains de Maïs, envisagés dans les mêmes
nditions au point de vue de la composition immé-
ate, PALLADINE a obtenu les résultats qui suivent et
ui mettent en évidence la transformation d'une
artie de l'amidon, que nous avons déjà signalée, en
icre et cellulose, et d'autre part la disparition com-
ète d'une autre partie de la réserve amylacée, celle
ui est précisément utilisée dans le phénomène respi-
toire, les nombres (mg) qui sont transcrits ci-des-
ous se rapportent à 22 grains de Maïs

	Poids de substance sèche	Amidon et dextrine	Sucres	Huiles	Cellulose
Graines	8636	6386	0	463	516
Plantules	4529	777	953	150	1316
Difference	— 4107	— 5609	+ 953	— 313	+ 800

8. Evolution physiologique d'une plante annuelle.

A l'inverse de l'assimilation chlorophyllienne nous venons de voir que la respiration constitue une perte de carbone pour la plante. Au début de la germination la respiration existe seule et elle se traduit, nous venons de le voir, par une diminution sensible du poids de la matière sèche; à partir du moment où les deux fonctions antagonistes s'effectuent simultanément il s'établit entre elles un rapport variable avec les différents états de développement; nous pouvons résumer avec JUMELLE la marche du phénomène résultant au cours du développement d'une plante annuelle.

En considérant les variations du poids de substance sèche aux diverses phases et dans les différents organes d'un végétal on est renseigné d'une manière approchée sur celles qui sont relatives aux substances organiques et particulièrement aux substances ternaires.

Si on s'adresse au Lupin, on peut distinguer cinq périodes principales dans son développement. Dans la période germinative la plante éprouve une diminution continue de poids, qui est due à la respiration et porte sur les cotylédons, alors que la racine et l'axe hypocotylé reçoivent au contraire des matières de migration.

Dans la seconde période, débutant avec la chute du tégument et le verdissement des cotylédons, la diminution de poids de la substanche sèche ne tarde pas à être remplacée par une augmentation due à l'assimi-

lation chlorophyllienne qui va en augmentant rapidement. Au cours de cette phase, les cotylédons continuent d'ailleurs à perdre du poids, ce qui est dû en majeure partie à la migration des substances qu'ils renferment.

Lorsque les cotylédons sont tombés, le poids de la substance sèche augmente rapidement jusqu'à la floraison ; elle porte surtout sur les feuilles et la tige, et à un moindre degré sur la racine.

Au moment de l'apparition des fleurs qui marque le début de la quatrième période, le poids de matière sèche de la racine diminue d'une manière absolue ; il y a migration des substances vers le haut de la plante et à ce fait ne correspond pas une augmentation du poids de la tige ; on peut constater à ce moment une diminution dans le poids de la substance sèche totale de la plante, ce qui correspond à la forte respiration des organes floraux.

La racine, la tige et les feuilles augmentent à nouveau de poids dans la dernière période, qui correspond à la maturation des fruits.

Les faits sont en tout point comparables pour une plante vivace lorsqu'on envisage chez celle-ci les variations de substance sèche d'un rameau au cours de la belle saison.

———

CHAPITRE VI

LES OXYDASES

Quel est le mécanisme intime de l'oxydation des sucres et autres substances consommées pendant la respiration ? Il faut avouer à cet égard notre ignorance, mais du moins il est intéressant de rapprocher de l'ensemble des phénomènes respiratoires des réactions qui se traduisent par l'oxydation de matières organiques et qui ont lieu sous l'intervention de diastases spéciales, les oxydases

1 La laccase

Toutes les diastases qui nous ont précédemment occupés, sauf certaines coagulases, agissaient toujours par hydratation, il s'agit ici de substances qui déterminent des phénomènes d'oxydation portant spécialement sur des corps de la série aromatique

Le type en est la laccase découverte (YOSHIDA) dans le latex de l'arbre à laque (*Rhus vernicifera*, Anacardiacés) et étudiée en détail par G BERTRAND, on emploie depuis longtemps ce latex dans l'Extrême-Orient pour en recouvrir les meubles, au contact de l'air le liquide, l'uruschi, provenant d'entailles pratiquées dans la tige et qui est tout d'abord clair et d'un

aspect rappelant le miel frais, donne une substance noire qui durcit et devient insoluble dans les dissolvants ordinaires ; cette transformation a d'abord été rapportée à une substance désignée sous le nom d'acide uruschique qui par oxydation donnerait naissance à l'acide oxyuruschique



$$2\ C^{14}H^{19}O^{2} + 3\ O = 2\ C^{14}H^{18}O^{3} + H^{2}O$$

C'est bien l'oxygène de l'air qui intervient pour assurer cette oxydation, car l'uruschi, conservé dans des flacons bien fermés, ne subit pas d'altération, non plus que dans le vide

Si on délaye le latex (G Bertrand) dans une assez grande quantité d'alcool (4 à 5 volumes) on dissout un assez grand nombre de substances, substances minérales, sucres et la matière organique qui se résinifie pour produire la laque ; pour isoler cette dernière on évapore l'alcool dans le vide, puis le résidu est agité avec de l'eau et de l'éther ; l'eau dissout les substances minérales et les sucres, l'éther dissout le *laccol* ; il s'agit d'une substance huileuse, très aisément oxydable ; par simple contact avec l'air l'oxydation est lente, la matière devient d'un brun rouge, puis se résinifie ; l'oxydation est beaucoup plus rapide en présence de potasse

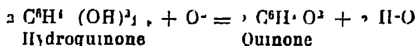
Quant au précipité déterminé par l'alcool, il est surtout constitué par une sorte de gomme, donnant par hydrolyse du galactose et de l'arabinose ; on le dissout dans l'eau chaude, on filtre, on reprend par l'alcool et le nouveau précipité est desséché dans le vide sulfurique ; c'est ce précipité qui contient la laccase ; nous sommes en présence d'une matière ayant les pro-

priétés générales des diastases et ne contenant pas d'azote.

Si nous mettons le laccol en contact avec cette matière, nous constatons que l'oxydation est beaucoup plus rapide et plus profonde ; il se forme une matière insoluble, d'un beau noir, ce qu'on n'obtient pas sans addition de laccase ; il est facile de constater d'autre part que dans ces conditions il y a fixation d'oxygène et dégagement de gaz carbonique.

Si on ajoute à une émulsion de laccol une solution bouillie de laccase, il ne se produit plus aucune réaction ; la laccase a été détruite à 100° comme le sont les autres diastases.

La laccase agit de même sur un assez grand nombre de corps et en particulier sur les phénols polyatomiques, dont se rapproche d'ailleurs le laccol ; c'est ainsi que la solution d'hydroquinone (paradiphénol) devient rose par addition de laccase, puis il se forme des lamelles cristallines d'un vert métallique ; l'hydroquinone est tout d'abord transformée en quinone



$$2\, C^6H^4(OH)^2 + O^2 = 2\, C^6H^4O^2 + 2\, H^2O$$

Hydroquinone Quinone

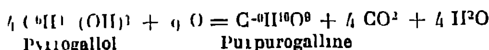
les cristaux verts sont constitués par de la quinhydrone, résultant de l'action de la quinone sur l'hydroquinone.

La pyrocatéchine (orthodiphénol) est moins facilement oxydée ; la résorcine (métadiphénol) ne l'est plus du tout ; d'ailleurs l'oxydation ne se borne pas dans le cas de l'hydroquinone à la formation de quinone et on observe, en même temps qu'une absorption d'oxygène, une production de gaz carbonique,

les échanges gazeux ont les valeurs relatives suivantes pour les trois diphénols

		O absorbé	CO² dégagé
Hydroquinone	4 hs	32,0	1,7
Pyrocatéchine	4 hs	17,4	2,8
Résorcine	15 hs	0,6	0,0

De même parmi les triphénols le pyrogallol (1 2 3) est oxydé et donne de la purpurogalline, alors que la phloroglucine (1 3 5) n'est pas transformée, on a donné pour la réaction relative au pyrogallol la formule suivante



$$4\, C^{6}H^{3}(OH)^{3} + 9\, O = C^{20}H^{16}O^{9} + 4\, CO^{2} + 4\, H^{2}O$$

Pyrogallol — Purpurogalline

qui implique une fixation d'oxygène et un dégagement de gaz carbonique

Les phénomènes ne sont pas modifiés quand on s'adresse à des corps où un certain nombre d'oxydriles sont remplacés par le groupement amidogène AzH^{2}

Les tannins sont également oxydés, enfin la teinture de résine de gaiac, contenant du gaiacol, donne naissance, sous l'influence de la laccase, à une belle coloration bleue, due à la formation d'acide gaiaconique, il s'agit encore ici d'un phénomène d'oxydation qui peut d'ailleurs être réalisé par des agents minéraux tels que le perchlorure de fer, l'acide chromique, le brome, le chlore

La laccase, découverte dans un liquide très spécial, est d'ailleurs très répandue dans le règne végétal, elle existe dans les tubercules de Betterave, de Dahlia, de Carotte, de Navet dans les tiges d'Asperge, les feuilles

de Luzerne, dans beaucoup de fruits (pommes, poires, marrons d'Inde) et chez beaucoup de Champignons Basidiomycètes, appartenant surtout aux genres *Russula, Boletus, Lactarius, Psalliota, Clitocybe* On la met facilement en évidence à l'aide de la teinture de gaiac, soit qu'il s'agisse de jus de presse, soit qu'on réalise la réaction sur une section de l'organe envisagé

Ce sont des oxydases tout à fait semblables, sinon identiques, à la laccase qu'on peut également mettre en évidence dans les tubercules de Pomme de terre, il suffit de les broyer en présence d'un peu d'eau et de filtrer le liquide, additionné de quelques gouttes de teinture de gaiac, on obtient la coloration bleue donnée par la laccase, il ne se produit plus rien de pareil lorsqu'on a porté le liquide à l'ébullition

Certains Champignons Basidiomycètes sectionnés acquièrent rapidement une coloration bleu de Prusse (*Boletus luridus, B cyanescens*), c'est qu'on a mis en présence par le traumatisme une oxydase et une substance sur laquelle elle est capable d'agir, les deux corps étant séparés dans les conditions normales

C'est de la même manière que s'explique le brunissement ou le noircissement que présentent lorsqu'ils sont exposés à l'air, les jus de presse de nombreuses plantes (plantules de Graminées, pommes, péricarpe de la noix, Fève, *Lathyrus niger*, *Helleborus niger*, *Arabis, Taraxacum officinale, Myosotis, Lamium album*) La coloration présentée par les jus de plantes ou par les organes sectionnés est d'ailleurs assez variable dans le règne végétal Le *Biota orientalis* et le *Thuja occidentalis* donnent naissance dans

ces conditions à une teinte violette, puis rouge et rouge brun

Des organes lésés ou subissant l'action du chloroforme présentent le même phénomène et pour la même cause, MOLISCH a montré que le suc de *Schenkia Blumenaviana*, autolysé par le chloroforme, présente une coloration rouge foncée, alors que la décoction de la même plante est incolore De même le jus de *Cichorium Intybus* prend, par autolyse chloroformique, une belle coloration violette, toutes ces transformations sont de même nature, mais portent sur des substances très variées

L'oxydase contenue dans un tissu et le corps sur lequel elle peut agir peuvent encore être mis à même d'agir l'un sur l'autre lorsque la perméabilité de la membrane cellulaire est réalisée par simple dessiccation, c'est ce qui explique le brunissement ou le noircissement des plantes d'herbier, on sait que certaines espèces prennent en se desséchant une teinte brune très foncée, on peut l'empêcher de se produire en détruisant la diastase par la chaleur, d'où la pratique de repasser ces plantes au fer chaud quand on veut les conserver en herbier avec une teinte qui ne soit pas trop différente de celle qu'elles présentent à l'état naturel Ajoutons d'ailleurs que ce n'est pas toujours à des oxydases qu'il faut attribuer ces changements de coloration qui peuvent aussi provenir de la décomposition de certaines substances aromatiques, des glucosides par exemple, par les diastases hydrolysantes qui leur correspondent

D'une manière générale, les oxydases sont beaucoup plus abondantes dans les organes en voie de crois-

sance active que dans les organes âgés, bien que très répandues dans tout le règne végétal, elles paraissent faire défaut chez les plantes aquatiques

Les jus de plantes capables de réagir sur la teinture de gaiac ou sur les composés aromatiques qu'ils contiennent eux-mêmes présentent du reste des réactions oxydantes vis-à-vis de substances variées C'est ainsi qu'une solution alcaline d'α naphtol et de traces de paraphénylènediamine, qui se maintient inaltérée ou se colore lentement, acquiert rapidement une coloration bleue lorsqu'on lui ajoute un peu d'un jus de plante contenant une oxydase; il se forme ici de l'indophénol

De même sous l'action de certains extraits végétaux on peut transformer l'aldéhyde salicylique en acide salicylique, l'aldéhyde formique en acide formique, l'acide arsénieux en acide arsénique, l'α naphtylamine incolore est capable aussi de subir une oxydation qui l'amène à l'état d'oxynaphtylamine de couleur bleu violacé

Mesure de l'intensité de l'action d'une oxydase — L'intensité de l'action de la laccase peut être évaluée d'une manière pondérable, par exemple par le poids de purpurogalline formée à partir du pyrogallol, ou volumétriquement, par la mesure de l'oxygène fixé

Chodat a montré par la première méthode que, si au bout de vingt-quatre heures la quantité de purpurogalline formée est représentée par a, pour une concentration de laccase égale à l'unité, cette quantité devient $a x + b$ pour une concentration x de laccase, b étant une constante Il suffit en pratique pour utiliser cette méthode d'introduire dans des flacons un

gramme de pyrogallol et des quantités variables d'une solution de laccase, étendues d'une quantité d'eau telle que le volume total du liquide reste constant. La purpurogalline est reprise par l'éther qui la dissout en prenant une coloration jaune ; on obtient par évaporation la substance à l'état cristallisé ; on peut aussi l'évaluer colorimétriquement par comparaison avec une solution éthérée de concentration connue.

Parmi les méthodes volumétriques qu'on a instituées pour l'évaluation de l'activité des oxydases, je me contenterai de signaler celle de BUNZEL qui permet de mesurer manométriquement la quantité d'oxygène absorbé dans l'action d'une oxydase sur une substance déterminée, le pyrogallol ; on prend comme unité d'oxydase contenue dans un jus de plante une dilution de cette diastase telle qu'un litre soit capable par oxydation de pyrogallol d'utiliser 8 grammes d'oxygène. L'appareil utilisé par BUNZEL et représenté par la figure 28 est constitué par un réservoir de verre d'une

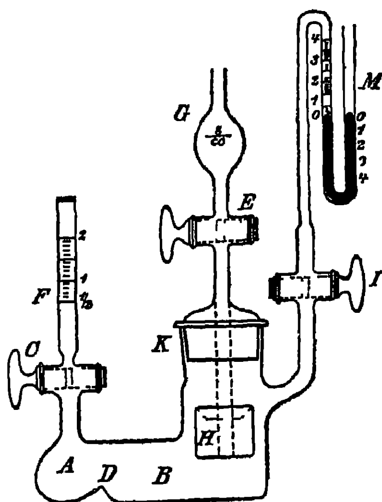


Fig. 28 — Appareil de BUNZEL destiné à l'évaluation de l'activité des oxydases.

contenance de 150 centimètres cubes environ, et divisé en deux compartiments, A et B, par un sillon D. Une burette F sert à introduire par le robinet C le jus de plante dans le compartiment A, le réservoir G est destiné à recevoir la solution à 1 p. 100 de pyrogallol et à la faire arriver dans le compartiment B, un petit vase H contient 1 centimètre cube d'une solution normale de soude et se trouve à une hauteur suffisante pour qu'il n'y pénètre pas de pyrogallol, enfin un manomètre M peut être mis en relation avec le réservoir de verre par l'intermédiaire d'un robinet I. Les deux liquides A et B sont mélangés par inclinaison du vase, la dépression qu'on observe dans l'appareil à la fin de l'expérience, celle-ci ayant lieu dans une étuve à température

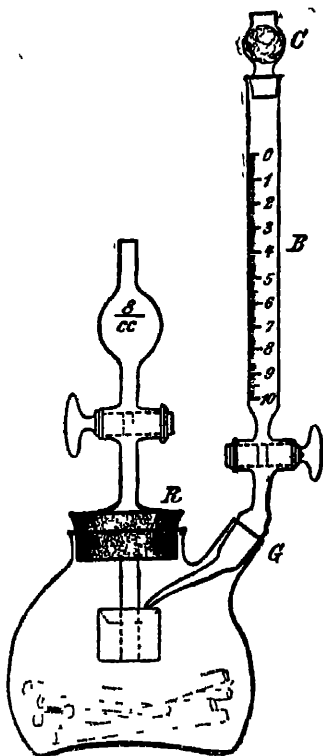


Fig. 29. — Appareil permettant le titrage de la solution de soude de l'appareil précédent.

constante, renseigne sur l'absorption d'oxygène, quant au gaz carbonique absorbé par la solution de soude on peut également en déterminer l'importance par un titrage effectué à l'aide d'un deuxième appareil représenté par la figure 29, la partie GEKH de l'appareil précédent est transportée sur un flacon contenant des morceaux de soude qui absorbent tout le gaz carbonique de l'air, une burette B contenant un acide titré permet d'introduire celui-ci dans le vase H jusqu'à neutralisation de la soude, en présence d'un indicateur tel que la phtaléine du phénol

On s'est également adressé (LABORDE), pour le dosage des oxydases, à l'évaluation de la coloration qu'elles produisent en présence de la teinture de gaiac, on peut prendre par exemple comme unité la coloration qui est réalisée dans 20 centimètres cubes d'une solution de teinture de gaiac par l'addition de 0 gr d'iode, on la compare aux colorations obtenues avec les liquides contenant une oxydase à l'aide d'un colorimètre.

2 La tyrosinase et les autres oxydases

On obtient de même un rougissement assez rapide, suivi de noircissement, lorsqu'on sectionne une Betterave jeune ou un tubercule de *Dahlia*, ou lorsqu'on abandonne à l'air le jus de ces organes ou encore celui de la Fève, il intervient ici une autre oxydase, la tyrosinase, ainsi nommée parce qu'elle agit sur la tyrosine pour l'oxyder La tyrosine est un acide aminé phénolique de formule $C^6H^4 OH - CH^2 - CHAzH^2 - CO^2H$, sur lequel la laccase est d'ailleurs sans action

La tyrosinase la plus active est celle qui est extraite de certains Champignons, en particulier de *Russula nigricans* et *R. delica*, on la rencontre aussi chez certains *Boletus*, *Lactarius*, *Amanita* et *Scleroderma*. Le *Russula nigricans* doit son nom à ce que son chapeau noircit lorsqu'il est sectionné et le fait est dû à l'existence simultanée de tyrosine et de tyrosinase ; chez le *R. delica* il ne se produit pas au contraire de noircissement parce que la tyrosine fait défaut, mais la tyrosinase s'y trouve en grande quantité et le Champignon en question peut permettre l'extraction de la diastase qui, obtenue à l'état de poudre sèche, garde son activité un temps considérable. Un peu de cette poudre ajoutée à une solution de tyrosine y détermine à partir de la surface une coloration rose qui va s'accentuant et vire au noir.

La tyrosinase n'agit pas sur les polyphénols qu'oxyde la laccase pour laquelle on a quelquefois proposé le nom de phénolase ; elle oxyde par contre une solution de p-crésol $\begin{matrix} CH^3 \\ \bigcirc \\ OH \end{matrix}$ avec laquelle elle donne une coloration jaune ou orange, pouvant aller jusqu'au rouge ; cette réaction nécessite une faible alcalinité du milieu, réalisée par exemple par un peu de soude ; l'addition d'une trace de glycocolle favorise l'obtention d'une coloration rouge.

Mais les jus capables d'agir sur la tyrosine présentent le plus souvent aussi les réactions de la laccase ; G. Bertrand a déterminé l'individualité des deux diastases oxydantes par le fait que la laccase n'est pas détruite par précipitation à l'aide de l'alcool,

ni à la température de 50°, conditions qui font au contraire disparaître la tyrosinase

Pour reconnaître si un liquide ne contient que de la laccase ou si celle-ci est associée à de la tyrosinase on peut introduire le liquide en question dans une solution de p-crésol à 1 p 100 et on le distribue dans quatre tubes Le premier reste sans addition d'aucune substance, on ajoute dans le second des traces d'acide acétique, dans le troisième des traces d'une solution de soude, dans le quatrième un peu de glycocolle S'il n'existe pas de tyrosinase, mais seulement de la laccase, le premier tube devient d'un blanc laiteux, le deuxième également, mais avec un trouble plus accentué, le troisième et le quatrième restent presque inchangés, si de la tyrosinase est présente les deux derniers liquides deviennent respectivement jaune et rouge

On peut évaluer l'activité d'une solution de tyrosinase par la quantité du produit brun (mélanine) qu'elle détermine dans une solution de tyrosine (Bach), la mélanine peut en effet s'oxyder en présence de permanganate de potassium (solution acide à 0,002 N) en donnant naissance à un produit incolore, il suffit donc d'évaluer le volume du liquide oxydant strictement nécessaire pour décolorer le pigment formé

Œnoxydase — C'est encore à une oxydase, l'œnoxydase, qu'il faut rapporter les phénomènes d'oxydation qui se produisent dans certains vins, constituant la maladie désignée sous le nom de casse, le phénomène est caractérisé par un jaunissement du vin et une précipitation de sa matière colorante

CAZENEUVE a préparé cette diastase en traitant des vins malades par un excès d'alcool, il se précipite une matière gommeuse, on reprend par l'eau, on précipite à nouveau par l'alcool et on dessèche dans le vide, la matière obtenue se montre douée de propriétés oxydantes très actives et peut reproduire la maladie

L'oxydase en question bleuit la teinture de gaiac, on l'a retrouvée dans les raisins mûrs et LABORDE rapporte son existence à la présence du *Botrytis cinerea*

Oléase — On a signalé de même l'existence d'une oxydase, appelée oléase, qui détermine une transformation des olives fraîches mises en tas, il se dégage dans ces conditions du gaz carbonique et il se forme de l'acide acétique et des acides gras variés, cette diastase peut également altérer l'huile dont on peut l'isoler par agitation en présence d'eau qui rassemble l'oléase, on peut de la sorte empêcher une altération ultérieure de l'huile

Nous ne tarderons pas à constater que certaines fermentations oxydantes sont également l'œuvre d'oxydases spéciales

3 Mécanisme de l'action des oxydases Peroxydases ; catalase

Dans le cas des oxydases, on a pu étudier de plus près que pour les autres diastases le mécanisme de la réaction qu'elles provoquent Si nous incinérons la laccase du *Rhus vernicifera*, nous constatons que

les cendres obtenues sont très riches en manganèse (2 p. 100), G. BERTRAND s'est demandé si ce métal n'entrait pas dans la molécule même de la diastase et s'il ne jouait pas un rôle important.

Certaines laccases sont au contraire très peu riches en manganèse, telle est celle de la Luzerne dont les cendres ne contiennent qu'une proportion inférieure à $\frac{1}{50\,000}$; or, si on vient à ajouter au jus des feuilles de Luzerne une petite quantité d'un sel de manganèse on voit son pouvoir oxydant augmenter notablement ; les volumes d'oxygène absorbé par une solution d'hydroquinone agitée d'une manière uniforme pendant six heures étaient les suivants dans les diverses conditions de l'expérience :

1 mg de Mn (sulfate manganeux)	0,3
Laccase de la luzerne	0,2
Laccase de luzerne + 1 mg de Mn	0,4

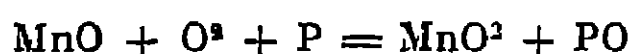
On voit de plus que les sels de manganèse peuvent jouer à eux seuls le rôle d'oxydases ; il y a dans les deux cas formation de quinone et une très petite quantité de sel peut déterminer l'oxydation d'une quantité illimitée d'hydroquinone. La réaction s'effectue en deux temps ; dans une première phase le sel manganeux R''Mn se dissocie en solution aqueuse et il se forme de l'acide correspondant au sel et du protoxyde de manganèse :



$$R''Mn + H^2O = R''H^2 + MnO$$

puis le protoxyde de manganèse s'oxyde au contact de l'air et pour un atome d'oxygène fixé pour produire du bioxyde de manganèse il se fixe un autre

atome sur le corps organique oxydable P, tel que l'hydroquinone



$$MnO + O^2 + P = MnO^2 + PO$$

A partir de ce moment, l'acide libre réagit sur le bioxyde formé pour régénérer le sel initial, en même temps qu'une nouvelle quantité de substance organique se trouve oxydée



$$MnO^2 + R''H^2 + P = R''Mn + PO + H^2O$$

Nous sommes ainsi revenus, en ce qui concerne le manganèse, à l'état initial et nous voyons comment on est amené à considérer les oxydases comme constituées par une substance dont le corps actif serait un métal capable de produire un peroxyde, ou même une substance organique de nature protéique douée de propriétés analogues (*oxygénases* de Bach et Chodat), c'est une idée semblable à laquelle nous avons déjà été amenés pour les diastases hydrolysantes lorsque nous avons vu l'action accélératrice de certaines substances minérales, se comportant comme des codiastases, et pour lesquelles la diastase proprement dite ne constituerait qu'une sorte de support Nous sommes en présence d'un des rôles des matières minérales les plus importants, puisque les différentes réactions qui se passent dans une cellule végétale se ramènent en fin de compte à des phénomènes de nature diastasique

Il existerait de même des oxydases à base de fer ou de cuivre et ainsi les oxydations que nous envisageons se trouvent ramenées à un processus général à toutes les oxydations étudiées en chimie, il se passe ce qu'on

observe par exemple entre le glucose et le carbonate céreux (JOB), si on ajoute de ce sel incolore à une solution de glucose et qu'on agite à l'air il se forme un sel rouge percérique, laissée au repos, la solution redevient incolore par suite de la réapparition du sel céreux, le sel percérique a été réduit par le glucose

Peroxydase — Reprénons la teinture de gaiac que nous avons vue bleuir sous l'action de la laccase, mise en présence de l'eau oxygénée pure, cette teinture ne subit aucune transformation, mais si au mélange d'eau oxygénée et de teinture de gaiac on ajoute divers jus d'organes végétaux, qui sont d'ailleurs sans action sur la teinture seule, on voit se produire la coloration bleue que font apparaître les oxydases, le même jus bouilli est inactif, l'expérience peut être en particulier réalisée avec des Oignons ou des feuilles de Pois qu'on broye en présence d'eau

L'eau oxygénée et plus généralement divers peroxydes $M\left\langle\begin{matrix}O\\|\\O\end{matrix}\right.$, sont donc réduits par une diastase spéciale contenue dans ce jus et qu'on a appelée une peroxydase, la partie de l'oxygène qu'ils perdent ainsi se dégage à l'état ionisé et se fixe sur la teinture de gaiac ou sur une autre substance oxydable, telle que l'éthylhydroperoxyde $C^2H^5\left\langle\begin{matrix}O\\|\\O\end{matrix}\right.$

On peut isoler les peroxydases de la même manière que les oxydases, c'est-à-dire obtenir, à partir des tissus végétaux, une substance sinon formée de

peroxydase pure, du moins contenant celle-ci en grande quantité Râpons par exemple des racines de Raifort, abandonnons la purée dans un vase fermé pendant une heure de manière à ce que le glucoside présent soit hydrolysé et exprimons le jus, le tourteau obtenu est repris par l'eau pendant dix heures environ, puis pressé à nouveau, cette opération est réalisée une deuxième fois, les trois liquides sont réunis et on ajoute de l'alcool jusqu'à ce qu'il apparaisse un précipité, on décante et le liquide clair, additionné d'alcool à 95°, donne naissance à un nouveau précipité, le premier précipité est peu actif, le second qui se dépose beaucoup plus lentement a un aspect de gomme et présente une coloration blanchâtre, lavé à l'alcool, puis desséché dans le vide sulfurique, il garde ses propriétés, qui sont très actives, pendant plusieurs années, si on a soin de le conserver à l'abri de la lumière

On peut avec la peroxydase ainsi préparée et mise en présence d'eau oxygénée réaliser l'oxydation de non seulement la teinture de gaiac, mais celle de l'acide iodhydrique, de l'hydroquinone, du pyrogallol, avec l'orthocrésol la peroxydase donne une coloration verte, avec le métacrésol une coloration rose clair, le paracrésol donne naissance dans ces conditions à un trouble laiteux opalescent

C'est une peroxydase qui se trouve dans l'assise protéique de l'albumen des Graminées et qui donne la coloration bleue en présence d'eau oxygénée et de teinture de gaiac, coloration qu'on avait tout d'abord rapportée à l'existence d'amylase

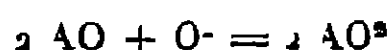
Beaucoup de jus de végétaux (nombreuses Cruci-

fères et Crassulacées, Pois, Violettes) ne brunissent de même à l'air qu'après addition d'eau oxygénée

On a pu de même obtenir le rougissement de la tyrosine et la réaction caractéristique de la tyrosinase sur le paracrésol en faisant agir un mélange d'eau oxygénée et d'une peroxydase extraite des racines de Fève

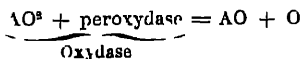
Si une oxydase, telle que la laccase, bleuit directement, sans addition d'eau oxygénée, la teinture de gaiac, cela tient à ce que cette oxydase est précisément équivalente à un complexe formé par une peroxydase et un peroxyde minéral ou organique, ce peroxyde est lui-même formé aux dépens d'un corps qui constitue la codiastase et qu'on a encore désigné, comme nous l'avons dit plus haut, par le terme d oxygénase

D'après ces vues, les réactions qui aboutissent à une oxydation sous l action d'une oxydase sont les suivantes, partant d'un oxyde AO capable de fixer de l'oxygène de l'air pour donner un peroxyde AO^2



$$2\,AO + O^2 = 2\,AO^2$$

ce peroxyde, en présence de la peroxydase à laquelle il est associé dans une oxydase, donne de l'oxygène atomique



$$\underbrace{AO^2 + \text{peroxydase}}_{\text{Oxydase}} = AO + O$$

de sorte que l'oxygène moléculaire a été transformé en oxygène actif qui peut se porter sur un corps phénolique (*accepteur*) pour l'oxyder et aboutir à un produit coloré

On peut d'ailleurs séparer les différentes substances qui interviennent ainsi dans une réaction diastasique

oxydante Adressons-nous par exemple à des tubercules de Pommes de terre, broyons-les en présence d'alcool à 95° à froid, filtrons à la trompe et répétons l'opération jusqu'à ce qu'on obtienne une poudre incolore, constituée surtout par des débris de cellules, de l'amidon, etc , les diastases se trouvent précipitées par l'alcool et sont contenues dans le résidu en question Repris par l'eau, il donne un liquide qui, filtré, ne produit de coloration avec la teinture de gaiac qu'après addition d'eau oxygénée, il s'agit donc d'une peroxydase

Pour obtenir la substance aromatique, sur laquelle agit la diastase en produisant le noircissement du jus il convient de traiter les tubercules de Pomme de terre broyés par de l'alcool à 96° bouillant, le liquide filtré et évaporé est repris par l'eau, on additionne d'acétate de plomb, le précipité, qui contient la substance recherchée est traité par un peu d'eau sulfurique, on se débarrasse par filtration du sulfate de plomb et le liquide, neutralisé par de la soude et additionné de la solution de peroxydase précédemment préparée, prend une coloration brune, il s'agit d'une substance du groupe de la pyrocatéchine Le peroxyde seul a échappé à l'isolement dans ces diverses manipulations

Un assez grand nombre de substances minérales peuvent jouer le rôle de peroxydases, tel est le ferrocyanure de fer colloïdal obtenu en faisant réagir l'un sur l'autre le sulfate ferreux et le ferrocyanure de potassium très dilués; de même le platine colloïdal, etc

Le ferrocyanure de fer colloïdal, mis en présence

d'eau oxygénée, donne à partir de l'hydroquinone, au bout de une ou deux minutes, des cristaux de quinhydrone Il existe d'ailleurs entre ces corps et les peroxydases naturelles de nombreux points de ressemblance, filtrables sans perte sur papier filtre, elles sont arrêtées par le collodion, à l'ébullition, les deux sortes de substances perdent leur activité en une minute, des traces d'acides minéraux gênent ou empêchent leur action, un excès d'eau oxygénée produit un effet toxique, l'acide cyanhydrique à $\frac{1}{4}$ 10^{-7}, l'acide sulfhydrique, l'hydrogène arsénié, l'oxyde de carbone constituent dans les deux cas des poisons

Il existe donc chez les végétaux une série de réactions oxydantes qui se trouvent être sous la dépendance de phénomènes diastasiques et on conçoit qu'il est tentant et satisfaisant pour l'esprit de généraliser cette notion et de rapporter à des oxydases toutes les oxydations qui ont lieu dans les cellules végétales

On peut concevoir par exemple que l'oxygène se fixe tout d'abord, par l'action d'oxydases, sur des produits phénoliques, tels que l'hydroquinone, les tannins, etc , abondamment représentés dans le règne végétal, puis que les corps oxydés formés, la quinone dans le cas de l'hydroquinone, réagissent sur les corps que nous avons vus disparaître dans le phénomène respiratoire, sur les sucres d'une manière particulière, pour les oxyder à leur tour, que ces sucres passent ou non par le stade intermédiaire d'acides organiques Les substances telles que les tannins et différents pigments auraient ainsi un rôle respiratoire indirect (PALLADINE)

On aurait, d'après cette théorie, la suite des réa tions suivantes

Substance oxydable + O^2 = Peroxyde
Peroxyde + peroxydase = Substance oxydable + O ionisé
Chromogène + O ionisé = Pigment
Pigment + Substance réductrice (sucre) = Chromogène + CC

Nous avons déjà vu comment la transformatic d'un chromogène en pigment peut être réalise in vitro à partir du chromogène extrait de la Pomn de terre et sur lequel on fait agir la peroxydase l'eau oxygénée Dans certains cas, il n'existe pas c chromogène dans les organes considérés, mais u substance dite prochromogène qui doit tout d'abor être transformée en chromogène avant de donne naissance à un pigment C'est ainsi que les plantulc de Blé, traitées par l'alcool, donnent par précipitation sous l'action de l'acétone une substance soluble dan l'eau et qui ne donne naissance à aucun pigment e présence de peroxydase et d'eau oxygénée, mais s cet extrait est traité au préalable par l'émulsine i apparaît une coloration rouge sous l'action de l peroxydase

Peut-être d'ailleurs ces chromogènes respiratoire jouent-ils le rôle des peroxydes qui interviennen dans le fonctionnement des oxydases, de toute façon leur oxydation explique que l'intensité du phéno mène respiratoire augmente au moment de la for mation des pigments (COMBES)

Catalase — Nous venons de voir que les peroxy dases décomposent les peroxydes en donnant de l'oxy gène actif qui se porte sur des corps oxydables, on a

observé aussi dans les tissus végétaux une diastase qu'on a désignée sous le nom de catalase et qui a la propriété de décomposer l'eau oxygénée en produisant un dégagement d'oxygène moléculaire; il ne s'agit plus par conséquent d'une réaction aboutissant à une oxydation et la diastase nouvelle ne sera considérée ici que par ce fait que l'eau oxygénée se trouve réduite comme dans le cas d'une peroxydase.

On peut montrer l'existence de la catalase en mettant des feuilles d'*Elodea* dans une solution de nitrate de potassium à 5 p. 100, à laquelle on ajoute 1 p. 100 d'eau oxygénée; on aperçoit au microscope une formation de bulles à partir du protoplasme; les autres peroxydes ne sont pas décomposés.

L'action catalytique de cette diastase est sensiblement proportionnelle à la concentration de l'eau oxygénée, pourvu que celle-ci reste comprise entre $\frac{M}{1000}$ et $\frac{M}{300}$; pour des concentrations plus fortes, elle apparaît moins considérable; la température agit sur la réaction qui est très faible entre 0° et 10°.

On peut facilement apprécier l'intensité de l'action de la catalase par le titrage de l'eau oxygénée au début et à la fin de l'expérience ou par l'évaluation du dégagement d'oxygène; il suffit par exemple de mélanger dans un vase de forme appropriée la solution de catalase et de l'eau oxygénée étendue, de recueillir l'oxygène dégagé dans un tube eudiométrique et d'effectuer la lecture à des intervalles de temps déterminés. LIEBERMANN a imaginé pour réaliser ces mesures l'appareil représenté par la figure 30; dans l'espace A, d'un volume d'environ 25 centimètres cubes, on introduit par E, à l'aide

d'une pipette 5 centimètres cubes d'une solution étendue de catalase (les robinets *a*, *c* et *d* étant fermés) et on ferme le robinet *b*, de la même manière, on introduit par F dans le renflement B 5 centimètres cubes d'une solution à 1 p. 100 d'eau oxygénée et on ferme *g*, enfin on verse en C 5 centimètres cubes d'une solution concentrée de chlorure de sodium, on ferme *h* et on retourne l'appareil. On adapte alors le manomètre gradué D en E et on ouvre les robinets *i* et *b* de manière à assurer une égalité de pression à l'intérieur et à l'extérieur.

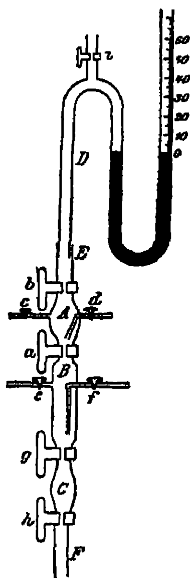


Fig. 30. — Appareil de LIEBERMANN permettant l'évaluation de l'action de la catalase.

Fermant ensuite le robinet *i*, on ouvre *a* et le liquide passe de A en B grâce au grand diamètre présenté par l'orifice de ce robinet, les deux liquides se mélangent et le dégagement d'oxygène peut être apprécié par le manomètre gradué en parties d'égal volume. Le liquide C sert à empêcher une sursaturation des gaz, en ouvrant *g* le mélange passe en C et les bulles de gaz adhérant à la paroi se détachent et se dégagent.

CHAPITRE VII

MECANISME PHYSIQUE DES ECHANGES GAZEUX

Les échanges gazeux qui ont lieu entre la plante et l'extérieur, qu'ils soient le fait de l'assimilation chlorophyllienne ou de la respiration, s'effectuent d'une manière sensiblement différente, au point de vue de la rapidité, suivant qu'il s'agit de cellules isolées, en contact direct avec l'air, ou, ce qui revient au même, de cellules périphériques de végétaux pluricellulaires, ou bien de cellules profondes, séparées de l'atmosphère extérieure par des éléments plus ou moins nombreux, dans le premier cas, les échanges sont directs, dans le second, ils ont lieu d'abord entre les cellules et une atmosphère interne occupant les méats ou les lacunes ménagées entre les cellules, puis entre cette atmosphère interne et le milieu extérieur

1 Échanges gazeux s'effectuant par une voie d'osmose

Les échanges gazeux qui se produisent à travers une membrane cellulaire sont réglés par les lois d'osmose s'appliquant aux gaz, les gaz n'existent d'ailleurs le plus souvent dans les cellules qu'à l'état

dissous et déjà de ce fait leur taux dépend essentiellement de leur coefficient de solubilité.

Prenons deux vases A et B contenant l'un A de l'oxygène, l'autre B du gaz carbonique (fig. 31) et séparons-les par une membrane végétale humide m ; supposons que nous ayons placé dans le vase A un flacon contenant une dissolution de potasse, celle-ci va absorber le gaz carbonique au fur et à mesure de son passage de B en A, la dépression h qui se manifestera dans le petit manomètre à mercure se trouvant en relation avec le vase A permettra d'évaluer le volume v d'oxygène, mesuré à la pression atmosphérique H, qui a passé dans un certain temps de A en B, en fonction du volume initial V, si H était la pression initiale, on a en effet

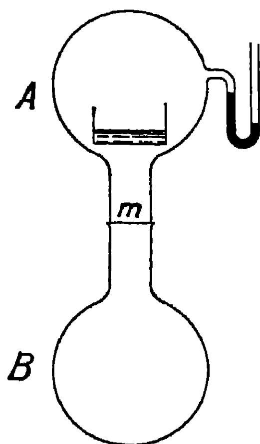


Fig. 31. — Appareil permettant d'évaluer les vitesses avec lesquelles différents gaz traversent les membranes.

$$v = \frac{Vh}{H}$$

Pour avoir la vitesse avec laquelle la membrane est traversée par le gaz carbonique, il suffit d'enlever le tube à potasse, de remplir A de gaz carbonique et B d'oxygène, on constatera de même, au bout du même temps que précédemment, une diminution h' de pression, qui correspondra à la différence $v' - v$ existant

entre les volumes de gaz carbonique et d'oxygène qui ont passé d'un vase dans l'autre, on a encore

$$v' - v = \frac{Vh'}{H} \qquad \text{d'où} \qquad v' = \frac{V}{H}(h + h')$$

Avec diverses membranes végétales on constate que la vitesse du passage de l'oxygène est environ 5,5 fois moindre que celle de l'azote et 11,5 fois plus faible que celle du gaz carbonique, ces écarts sont en relation avec la grande solubilité du gaz carbonique, les gaz se dissolvant dans la membrane avant de se dégager de l'autre côté, à cet égard l'osmose des gaz est tout à fait analogue à celle des substances dissoutes

On peut employer comme membranes dans de telles expériences des épidermes de feuilles dépourvus de stomates (épiderme de la face supérieure de nombreuses feuilles, du Lierre en particulier) Mais les résultats varient d'ailleurs essentiellement, au point de vue de l'intensité du phénomène, avec la nature de la membrane choisie Les plus perméables sont les membranes cellulosiques imbibées d'eau, lorsqu'on s'adresse à des membranes fortement cutinisées, subérisées ou cireuses, très peu riches en eau, le phénomène se trouve réduit pour la plupart des gaz, cependant le gaz carbonique continue le plus souvent à passer rapidement à travers elles, on invoque alors, pour expliquer le fait, la présence dans l'intérieur de la membrane de corps gras, dans lesquels le gaz en question est assez soluble

Nous avons déjà dit que les membranes complètement désséchées ne se laissent pas traverser par les gaz, une pellicule de raisin sèche et mastiquée en haut d'un tube barométrique permet au vide de se maintenir

pendant plusieurs semaines. On a pu de même constater que les membranes sèches ne laissent pas passer des gaz comprimés d'un côté de ces membranes à une pression de 3 atmosphères, il faut naturellement dans de telles expériences assurer aux membranes un support qui leur permette de résister à de telles pressions sans se rompre. Si nous venons à mouiller les membranes, il se produit aussitôt un passage des gaz, surtout rapide pour le gaz carbonique.

2. Échanges gazeux s'effectuant par diffusion et filtration

A côté de ces échanges gazeux relativement lents, il peut exister des mouvements plus rapides des gaz s'effectuant par suite du phénomène de diffusion à travers les espaces intercellulaires et entre ceux-ci et l'extérieur, grâce à des orifices ménagés dans les tissus périphériques, il s'agit des stomates et des lenticelles dont nous avons déjà indiqué les dispositions morphologiques essentielles à propos des échanges de vapeur d'eau.

Nous avons vu, lorsqu'il s'est agi de l'assimilation chlorophyllienne, l'influence des stomates sur l'intensité des échanges gazeux avec l'extérieur, les dispositifs employés, consistant soit à recouvrir les faces des feuilles d'un enduit gélatiné obturant les stomates (Mangin), soit à étudier les modifications de l'atmosphère à la surface de chacune des faces d'une feuille présentant un nombre de stomates variable (Blackman), s'appliquent intégralement aux échanges gazeux provenant de la respiration. On trouve par exemple, pour représenter les intensités respiratoires au niveau

des deux faces d'une même feuille, les nombres qui suivent

	Face supérieure	Face inférieure	Rapport des deux intensités
	—	—	—
Ampelopsis	3	96	1 : 33
Tropæolum	14	36	1 : 2,6

Pour la première espèce, le grand écart observé pour les intensités respiratoires au niveau des deux faces correspond au fait que la feuille d'*Ampelopsis* ne possède de stomates qu'à sa face inférieure, les échanges gazeux qui s'effectuent au niveau de la face supérieure représentent donc ceux qui s'effectuent par voie d'osmose. Dans le cas de la Capucine, la face supérieure possède deux fois moins de stomates que la face inférieure.

La diffusion des gaz à travers des membranes végétales percées d'orifices stomatiques peut être comparée à celle qui s'effectue à travers une plaque de porcelaine poreuse, la vitesse de cette diffusion est inversement proportionnelle à la racine carrée du poids spécifique, on constate par exemple que l'hydrogène passe très rapidement à travers une telle plaque P mastiquée à l'extrémité d'un tube T (fig. 32), si on remplit le tube d'hydrogène, qu'on ferme ensuite le robinet R, on constate une ascension du mercure dans le tube T, l'hydro-

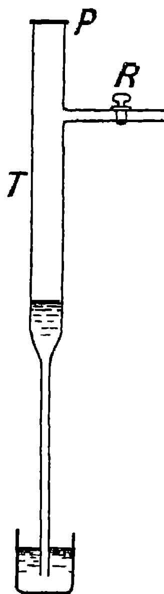


Fig. 32. — Appareil montrant la diffusion des gaz à travers une plaque de porcelaine dégourdie.

gène traversant la plaque beaucoup plus rapidement que les éléments de l'air Mais, en ce qui concerne les gaz existant ordinairement dans les végétaux, le phénomène est surtout influencé par les changements de pression qui peuvent se produire dans les espaces intercellulaires, par suite de changements de température ou de l'inégalité des échanges gazeux envisagés

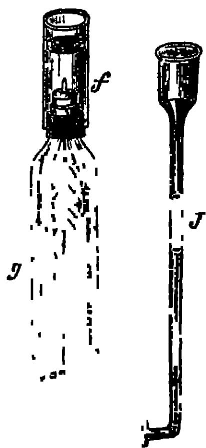


Fig 33 — Appareil montrant la circulation des gaz à travers les tissus d'une feuille

Quant à la possibilité d'une circulation gazeuse à l'intérieur du système lacunaire interne, on peut la mettre en évidence par des expériences très simples Disposons une feuille suivant la figure 33, de manière à ce que son limbe se trouve dans une atmosphère confinée d'air normal et son pétiole dans de l'eau, à l'aide de mercure versé par un tube latéral J, on provoque un accroissement de pression dans l'atmosphère baignant le limbe, on voit alors se dégager des bulles de gaz au niveau du tissu cortical de la section du pétiole

On peut varier l'expérience précédente en disposant au contraire le limbe dans de l'eau et en comprimant de l'air suivant la section du pétiole, on observe alors le dégagement de bulles gazeuses à la surface du limbe et, si celui-ci ne possède de stomates que sur une face, ce n'est que sur cette face qu'apparaissent les bulles

gazeuses On réalise très simplement cette dernière expérience avec des feuilles de Primevère dont on met le pétiole dans la bouche et dans lesquelles on insuffle de l'air, la pression ainsi produite est suffisante pour faire apparaître un dégagement gazeux à la surface du limbe placé dans de l'eau

Cette circulation des gaz à l'intérieur du système lacunaire est suffisante pour assurer l'existence de l'oxygène à l'intérieur des organes les plus charnus et les plus épais (tubercules, organes des plantes grasses, fruits tels que le Potiron, etc), la respiration peut donc s'y effectuer normalement

Mais on conçoit d'autre part que la composition des gaz contenus dans l'intérieur des organes massifs des végétaux doive présenter de notables différences avec celle de l'air atmosphérique, qu'il nous suffise de rapporter ici les nombres donnés par DEVAUX relativement à des tubercules de Carotte

Azote	77	— 89	%
Oxygène	0,4	— 10,6	%
Gaz carbonique	1,4	— 17,8	%

Les échanges respiratoires sont ici seuls en cause et on voit que l'oxygène est toujours en quantité moins et le gaz carbonique en quantité plus élevée que dans l'atmosphère

Du fait de ces échanges inégaux des différents gaz, combiné à l'existence du phénomène transpiratoire, il arrive fréquemment que l'atmosphère interne des végétaux se trouve avoir une pression différente de celle de l'air extérieur, elle peut lui être inférieure (pression négative) ou supérieure (pression positive) suivant les cas

On observe fréquemment des pressions gazeuses négatives dans les tiges des végétaux supérieurs chez lesquels la transpiration est active, comme nous avons signalé dans ces mêmes conditions, une pression négative de l'eau des vaisseaux ligneux.

Il est facile de se rendre compte de ce fait en prenant une tige qui présente latéralement des rameaux

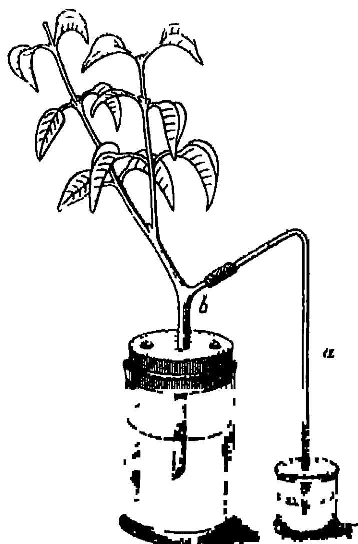


Fig. 34. — Dispositif montrant l'existence d'une pression négative des gaz dans un rameau feuillé.

feuillés ; la section inférieure de cette tige repose sur l'eau (fig. 34) et sa section supérieure est mise en relation, par l'intermédiaire d'un tube de caoutchouc, avec un tube de verre capillaire reposant sur du mer-

cure, on constate au bout d'un certain temps une ascension du mercure qui indique l'existence d'une dépression de l'atmosphère interne. D'ailleurs si on introduit l'extrémité d'un rameau en pleine activité transpiratoire et attenant à la plante dans du mercure ou un liquide coloré, on constate que le liquide pénètre non seulement dans les vaisseaux du bois, mais aussi dans le système lacunaire de l'écorce.

Le cas des plantes aquatiques immergées mérite à cet égard d'être considéré à part, il n'y a pas chez elles de stomates, mais la cuticule est nulle ou très faiblement développée et elle est beaucoup plus perméable que celle des cellules développées au contact de l'air, d'autre part, le système lacuneux est très important chez les plantes aquatiques, alors qu'il ne représente guère que 3, 5 p. 100 du volume total chez le *Begonia* et 20 p. 100 la moyenne chez les plantes terrestres, il atteint jusqu'à 70 p. 100 chez les plantes aquatiques, il contient une atmosphère qui, à l'obscurité, est relativement riche en gaz carbonique et pauvre en oxygène, d'ailleurs les échanges s'effectuent avec une atmosphère représentée par les gaz dissous dans l'eau et dont la composition centésimale est environ la suivante :

Azote	63,20
Oxygène	33,90
Gaz carbonique	2,90

Si on considère les plantes vertes aquatiques à l'obscurité le gaz carbonique interne s'exosmose rapidement, beaucoup plus vite que l'oxygène ne pénètre à l'intérieur, il en résulte une pression négative dans les lacunes, comme dans le cas considéré plus haut. A

la lumière, l'oxygène provenant du phénomène chlorophyllien s'accumule au contraire par suite de son exosmose relativement faible et détermine une pression positive, c'est là ce qui explique que lorsqu'une tige feuillée aquatique est sectionnée et exposée à la lumière il se dégage par la section des bulles d'une atmosphère contenant une grande proportion d'oxygène, c'est sur ce phénomène qu'est basée la méthode de mesure du phénomène chlorophyllien par numération de bulles

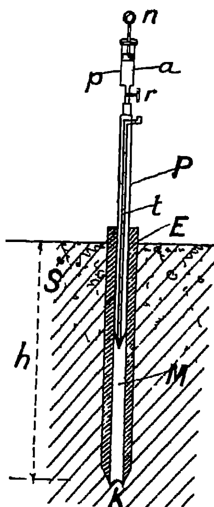


Fig. 35 — Sonde destinée à effectuer des prises de l'atmosphère du sol (Mayer).

3 Atmosphère du sol

Si les organes aériens des végétaux ont à leur disposition une atmosphère de composition pratiquement constante, il n'en est pas de même des parties souterraines et il peut arriver que la croissance des racines et leur vie même se trouve limitée en profondeur par une diminution considérable et quelquefois par une disparition complète de l'oxygène, l'aération du sol constitue de toute évidence une condition importante de sa fertilité

Les êtres qui vivent dans le sol amènent des modifications importantes dans la composition de l'atmos-

phère, et d'une manière générale la teneur en gaz carbonique s'y trouve toujours plus élevée que dans l'air ; mais il y a à cet égard de grandes variations avec la profondeur et aussi avec la saison

On a imaginé différentes méthodes permettant d'extraire les gaz du sol en vue de leur analyse ; l'appareil à prises utilisé à cet effet par MANGIN consiste essentiellement (fig 35) en une pompe vissée sur une sonde, qu'on peut enfoncer à des profondeurs variables, l'auteur a trouvé pour des sols normaux, où on cultivait des Lupins les compositions gazeuses suivantes à différentes profondeurs

	0 m 25	0 m 50	0 m 75
	—	—	—
Gaz carbonique	0,14	0,51	0,59
Oxygène .	20,17	20,17	19,74
Résidu	79,69	79,32	79,64

On voit bien qu'il se produit une augmentation dans la teneur en gaz carbonique, mais elle est assez faible Il n'en est plus de même dans des sols qui ne sont pas travaillés ; MANGIN a surtout étudié à ce point de vue les sols de Paris où se trouvent plantés des arbres et il a pu constater que l'oxygène y diminue rapidement avec la profondeur et peut arriver à faire complètement défaut, voici d'ailleurs un exemple d'analyses qui se rapportent à des plantations d'Ormes du Boulevard du Palais

	Sol de la grille		Sol situé sous le bitume
Profondeur de la prise	0 m 30	0 m 80	0 m 15
	—	—	—
Gaz carbonique	3,06	7,50	13,07
Oxygène	16,21	11,51	0
Résidu	80,73	80,99	86,93

Cette diminution de l'oxygène dans l'atmosphèr du sol est évidemment due au phénomène respir toire des organes souterrains des végétaux supérieur et à celui des nombreux microorganismes qui s développent dans la terre. Elle se produit aussi dan les eaux stagnantes faiblement éclairées ; DEHÉRAIN par exemple constaté qu'il n'existait plus trace d'oxy gène dans l'eau d'une mare entièrement couverte d Lentilles d'eau formant écran vis-à-vis de la lumière

CHAPITRE VIII

FERMENTATIONS PAR OXYDATION

Nous retrouvons la respiration avec les caractères que nous venons d'étudier aussi bien chez la plupart des végétaux inférieurs, Champignons et Bactéries, que chez les végétaux supérieurs, il s'agit toujours d'une oxydation profonde de matières organiques, situées à l'intérieur ou à l'extérieur des cellules, oxydation qui aboutit à la formation de gaz carbonique, mais il est un certain nombre d'organismes chez lesquels les échanges gazeux, bien que correspondant toujours à des réactions exothermiques, et constituant par suite pour ces végétaux une source d'énergie, se présentent avec des caractères quelque peu différents, il s'agit d'une transformation de substances extérieures aux cellules vivantes, transformation pouvant porter sur une masse de ces substances considérables par rapport à la masse du végétal qui en est l'agent, on désigne de telles réactions sous le nom général de fermentations, de leur fait, le milieu de culture se trouve profondément modifié et, lorsqu'elles correspondent à des phénomènes d'oxydation, les produits terminaux peuvent être différents du gaz carbonique et correspondre à une combustion incomplète.

1. Fermentation acétique

Si un liquide alcoolique (vin, bière, cidre...) es abandonné à l'air, on constate qu'il se forme à sa sur face un voile glaireux, ordinairement constitué pa deux bactéries, la plus grosse est le *Mycoderma ace* ou fleurs du vin, l'autre une bactérie acétique, qu peut elle-même correspondre à des espèces asse nombreuses *Bacterium pasteurianum* (fig. 36), *Bac*

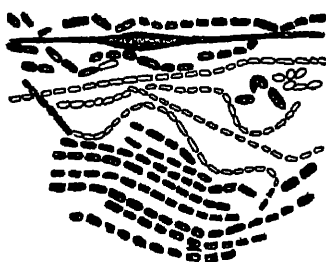


Fig. 36.
Bacterium pasteurianum



Fig. 37.
Bacterium aceti

aceligenum, *B. oxydans*, *B. xylinum*, *B. aceti* (fig. 37) *B. acetosum*, *B. Kutzingianum* etc., en même temp le liquide devient acide (vinaigre) par suite de l transformation de l'alcool en acide acétique



$$CH^3.CH^2OH + O^2 = CH^3.CO^2H + H^2O$$

Pour mettre en évidence le phénomène, il suffi d'exposer à l'air en large surface un mélange d'un partie de vin, de deux parties d'eau et une de vinaigre le liquide est vite ensemencé, en particulier par u Diptère, le *Drosophila cellaris*, qui apporte les bac

téries acétiques et détermine la formation d'un voile (mère du vinaigre). Si on ensemence ces bactéries sur un liquide identique contenu dans un flacon fermé et muni d'un manomètre (fig. 38), on constate qu'au bout de trente-six heures, à une température comprise entre 20° et 30°, l'atmosphère a acquis une composition centésimale telle que la suivante :

Oxygène	0
Gaz carbonique	1,17
Azote	98,83

Le poids de la substance sèche de la bactérie est de l'ordre de 5 mg, elle se trouve avoir ainsi fixé 165 fois son poids d'oxygène, il ne s'est dégagé qu'une très faible quantité de gaz carbonique qui représente la respiration normale, et par suite la pression de l'atmosphère interne se trouve fortement diminuée.

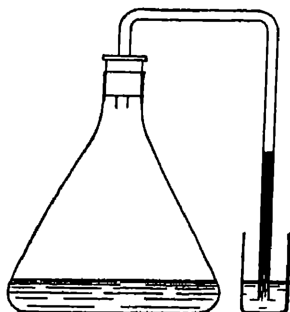


Fig. 38. — Liquide alcoolique ensemencé de *Micrococcus aceti*, l'absorption de l'oxygène se traduit par une dépression interne.

La transformation de l'alcool en acide acétique s'effectue en deux temps, l'alcool donne tout d'abord naissance par oxydation à de l'aldéhyde :



$$CH^3.CH^2OH + O = CH^3.COH + H^2O$$

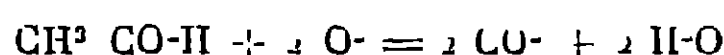
mais cette aldéhyde n'existe jamais qu'en petite quan-

tité dans le liquide car elle est, aussitôt que produite, oxydée à son tour



$$CH^3COH + O = CH^3CO^2H$$

D'ailleurs si l'alcool vient à faire défaut l'oxydation se porte sur l'acide acétique lui-même qui est complètement brûlé, donnant naissance à du gaz carbonique et de l'eau



$$CH^3CO^2H + 2O^2 = 2CO^2 + 2H^2O$$

Aussi, dans la fabrication du vinaigre, il est essentiel pour qu'il ne s'effectue pas de perte de l'acide acétique, d'ajouter toujours du vin

Lorsque le milieu où opèrent les bactéries acétiques n'est pas aseptique, il peut être ensemencé par d'autres bactéries, capables elles aussi d'oxyder l'acide acétique formé et ainsi le sucre initial se trouve être transformé par trois étapes successives en gaz carbonique et eau, comme dans le phénomène respiratoire, et cela du fait de trois organismes successifs, ceux de la fermentation alcoolique, de la fermentation acétique et enfin des bactéries déterminant la combustion complète de l'acide acétique

On a pu rapporter l'action du *Bacterium aceti* à une oxydase spéciale, l'alcooloxydase, que Buchner et Meisenheimer ont extraite par macération à l'acétone et broyage en présence de terre d'infusoires, le liquide obtenu oxyde l'alcool étendu en présence de l'air, sans intervention de cellules vivantes, la diastase en question ne donne pas du reste les réactions colorées des oxydases du groupe de la laccase et de la tyrosinase.

Les différentes espèces de bactéries acétiques se distinguent physiologiquement par la concentration alcoolique optima, qui est par exemple de 5 p. 100 pour le *Bacterium oxydans* et de 12 p. 100 pour le *Bacterium ascendens*. La température optima varie également, ainsi que le rendement en acide; ce dernier est d'environ 2 p. 100 pour le *B. oxydans* et de 6 p. 100 pour le *B. aceti*.

Les bactéries acétiques agissent d'ailleurs par oxydation sur un assez grand nombre de substances; c'est ainsi que l'alcool propylique $C^2H^5CH^2OH$ est attaqué par le *B. pasteurianum*, d'autres espèces transforment de même le glycol, l'alcool butylique, l'alcool isobutylique et même l'alcool amylique dans les acides correspondants. Certaines encore oxydent la glycérine en acide glycérique ou en dioxyacétone $CH^2OH — CO — CH^2OH$, substance qui se reconnaît en particulier par la propriété qu'elle possède de réduire rapidement à froid la liqueur de FEHLING; nous retrouverons ce corps à propos de la fermentation alcoolique.

Les sucres polyatomiques tels que l'érythrite, la sorbite, la mannite sont également oxydés par certaines bactéries acétiques qui les transforment en sucres réducteurs correspondants, érythrulose, sorbose, lévulose.

De la même manière les bactéries de ce groupe physiologique transforment les sucres réducteurs en acides correspondants, le glucose en acide gluconique, le galactose en acide galactonique. L'oxydation peut d'ailleurs aller plus loin et on a pu obtenir à partir des sucres de l'acide oxalique; ce dernier acide devient caractéristique d'un certain nombre de fermentations oxy-

dantes et nous devons en envisager d'une manière spéciale la formation

2 Fermentation oxalique

Un grand nombre de Mucédinées (*Penicillium, Aspergillus*) et de Mucorinées produisent une quantité appréciable d'acide oxalique dans les milieux où elles se développent et cet acide apparaît souvent à l'état d'oxalate de calcium cristallisé, cette production n'est d'ailleurs pas fatale et ce n'est que dans des conditions déterminées qu'elle a lieu, ces conditions ont été élucidées par de nombreux travaux, en particulier par ceux de WEHMER, de BENECKE et les miens propres On peut distinguer à cet égard l'acide oxalique qui correspond à un phénomène de neutralisation et celui qui résulte d'une inanition partielle

Acide oxalique de neutralisation

Considérons une culture de *Sterigmatocystis nigra* réalisée dans un milieu équilibré, ayant un volume de 150 centimètres cubes, contenant 7 grammes de saccharose, du nitrate d'ammonium et les sels minéraux (phosphate monopotassique, sulfate de magnésium, sulfate ferreux et sulfate de zinc), nécessaires à la croissance normale du mycélium et en quantités telles que toutes les substances disparaissent en même temps que le sucre du liquide nutritif, on constate dans ces conditions que c'est uniquement dans la période d'autolyse du mycélium qu'apparaît l'acide oxalique, sa formation n'est d'ailleurs pas liée à une augmenta

tion correspondante de l'acidité du milieu et il existe un rapport constant entre le taux en acide oxalique et celui de l'ammoniaque contenu dans le liquide, c'est sous la forme d'oxalate d'ammonium que l'acide apparaît et il est naturel de penser qu'il a été formé sous l'action de l'ammoniaque résultant de la transformation des matières protéiques, il s'agirait d'une réaction provoquée par une tendance à l'alcalinité

Si les choses se passent bien ainsi, on doit pouvoir obtenir une production d'acide oxalique en substituant au liquide de culture, lorsque le mycélium a à peu près atteint le maximum de son poids, une solution alcaline de carbonate neutre de sodium ou d'ammoniaque, on ne doit pas au contraire obtenir d'acide oxalique si on substitue un liquide acidulé par l'acide chlorhydrique, sulfurique etc, c'est bien ainsi que les choses se passent, pour un volume de 150 centimètres cubes de différents liquides ainsi substitués, on obtient les quantités suivantes d'acide oxalique

DURÉE de contact avec les liquides substitués	ACIDE OXALIQUE (mg) FORMÉ EN PRÉSENCE DE			
	Eau	Carbonate neutre de sodium		Acide Chlorhydrique
		5 cm³ N	9 cm³ 5 N	13 cm³ N
6 heures	0	207	0	0
1 jour	24	378	609	0
2 jours	93	459	875	0
3 —	133	511	1051	0
4 —	154	538	1141	0
6 —	169	567	1153	0
8 —	175	575	1161	0

Avec l'eau, on retrouve la même quantité d'acide oxalique produit que dans les conditions normales de culture ; avec un milieu alcalin, il se forme des quantités d'acide oxalique proportionnelles aux doses de base libre, tant qu'on n'atteint pas une dose toxique ; en présence d'acide, il n'y a plus production d'acide oxalique.

Ces résultats peuvent encore être obtenus par une autre voie expérimentale, qui consiste à effectuer des cultures sur des liquides de composition telle qu'ils tendent à devenir neutres, alcalins ou acides par le jeu même des échanges nutritifs.

Comparons la production de l'acide oxalique dans des séries de cultures de *Sterigmatocystis nigra* où l'aliment azoté est constitué soit par de l'azotate d'ammonium, soit par du nitrate de potassium, de calcium, soit enfin par du chlorure d'ammonium ; dans le premier cas, c'est d'abord l'ammoniaque qui est consommée, puis l'acide azotique est à son tour utilisé, si bien que, pour une dose convenable de ce sel, le liquide devient très sensiblement neutre au moment où tout le sucre est consommé ; dans le second cas, c'est le radical acide qui disparaît seul et le liquide a tendance de ce fait à acquérir une alcalinité croissante ; enfin en présence du chlorure d'ammonium, c'est de l'acide chlorhydrique qui s'accumule dans le liquide.

Or, dans le premier cas, on observe une formation d'acide oxalique ayant l'importance que nous avons signalée (180 mg environ) et ne commençant qu'après le troisième jour de culture à 36° ; en présence de nitrate de potassium, on obtient les quantités sui-

vantes d'acide oxalique, combiné à l'état d'oxalate de potassium :

Durée de la culture	Acide oxalique
1 jour	0
1 — 1/3	62
1 — 2/3	131
2 —	197
2 — 1/3	235
2 — 2/3	267
3 —	293
4 —	344
6 —	405
8 —	439

On voit que l'acide oxalique apparaît déjà en quantité appréciable au bout de un jour un tiers, c'est-à-dire aussitôt qu'une quantité notable d'acide nitrique a été utilisée, et alors que le sucre ne disparaît entièrement qu'entre le troisième et le quatrième jour, la production d'acide oxalique n'est donc pas liée forcément à l'épuisement du milieu en sucre.

Le résultat est le même avec le nitrate de calcium, mais il se forme alors entre les filaments mycéliens des cristaux d'oxalate de calcium. On n'observe par contre aucune formation d'acide oxalique, lorsque l'aliment azoté est constitué par le chlorure d'ammonium à une concentration qui correspond à la dose optima d'azote par rapport au poids de sucre fourni.

Ajoutons encore que si on remplace à la fois le sucre et l'azotate d'ammonium par de la peptone servant de source de carbone et d'azote, on obtient une rapide et très importante production d'acide oxalique due à ce que la peptone est décomposée en ammoniaque dont une partie n'est pas utilisée. WEHMER a pu de la sorte obtenir 1 g, 353 d'acide oxalique à

partir de 2 g 5 de sucre, dans ces conditions 1,290 de sucre avaient servi à élaborer le mycélium et 0,378 avaient produit du gaz carbonique.

La production d'acide oxalique par les Mucédinées est donc bien, pour son intensité comme pour le stade du développement où elle s'effectue, sous la dépendance immédiate de la réaction du milieu de culture ; nous nous trouvons en présence d'une réaction cellulaire qui explique le fait banal, mais très remarquable, consistant en ce que le milieu nutritif est toujours acide, quelle qu'en soit la composition initiale.

Lorsqu'il se produit ainsi de l'acide oxalique sous l'influence d'une réaction alcaline la respiration proprement dite, résultant d'une combustion incomplète des sucres, continue à se produire, mais l'oxydation des monosaccharides conduisant à la formation d'acide oxalique



$$2\ C^6H^{12}O^6 + 9\ O^2 = 6\ C^2O^4H^2 + 6\ H^2O$$

n'implique pas un dégagement de gaz carbonique et le quotient respiratoire se trouve abaissé d'autant plus qu'il se forme davantage d'acide oxalique ; on obtient par exemple les valeurs suivantes pour ce quotient, avec les liquides substitués présentant une acidité ou une alcalinité variée :

Acidité (+) ou alcalinité (—) du liquide substitué (cm³ N)	Acide oxalique (mg)	Gaz carbonique dégagé (cm³)	Quotient respiratoire
+ 15	0	230	1
+ 3	108	1726	0,88
0	212	1807	0,86
— 3	444	1841	0,83
— 6	680	1523	0,81
— 9	976	1445	0,78
— 12	0	284	0,95

On voit que l'intensité du phénomène respiratoire, maxima pour un milieu neutre ou faiblement alcalin, diminue avec l'acidité ou l'alcalinité du liquide substitué, quant au quotient respiratoire, il s'atténue très régulièrement en raison de la quantité d'acide oxalique produit

Ces phénomènes que nous rapportons à une fermentation, en raison de ce fait que l'acide considéré se forme en dehors du mycélium, ne sont pas en somme différents de ce qu'on observe chez les plantes supérieures et doivent servir à expliquer la production de l'acide oxalique chez ces dernières, il est bien vraisemblable, et ce sont les conclusions auxquelles arrive AMAR, que l'oxalate de calcium, qui est si fréquent chez les plantes vasculaires, provient du fait que le nitrate de calcium étant utilisé comme source d'azote, la chaux tend à rendre le suc cellulaire alcalin, de l'acide oxalique le neutralise

BENECKE a montré de son côté qu'il se produit plus d'acide oxalique chez le Maïs quand on fournit à celui-ci de l'azotate d'ammonium, que lorsque la source azotée est constituée par du chlorure d'ammonium

Acide oxalique resultant d'une inanition partielle

Mais ce n'est pas toujours à l'état combiné qu'apparaît l'acide oxalique dans une culture de Mucédinée, reprenons le *Sterigmatocystis nigra* et cultivons-le sur un milieu normal à cela près que la quantité de phosphore fournie au végétal se trouve réduite au $\frac{1}{25^e}$ de la dose optima, le potassium étant maintenu à son taux normal par l'addition de chlorure de potassium

La marche du développement est très différente de qu'elle est dans les conditions ordinaires, la réco maxima est très diminuée et ne se trouve atten qu'au bout de trente jours, de plus, pendant la lei croissance du mycélium, il se forme une quant importante d'acide oxalique restant libre et comm niquant au liquide une acidité très notable, la marc de la culture est d'ailleurs indiquée par le table suivant

Durée de la culture (jours)	Poids du mycelium sec	Acidité (cm³ N)	Acide oxalique (mg)
2	662	3,4	32
3	749	4	48
5	879	11,5	308
8	965	16	456
12	1092	24,5	708
15	1163	25,4	800
18	1204	26,9	896
21	1221	25	856
30	1364	13	544
40	1022	2,6	352

On voit que la quantité d'acide oxalique produit e considérable, le maximum, environ 900 mg, corre pondrait à une acidité égale à 900 : 45 = 20 centimètre cubes N, au lieu des 27 observés, la différence peu s'expliquer à la fois par la présence d'acide azotiqu libre et par le fait qu'il se forme également dans ce conditions un autre acide organique que nous allon bientôt considérer. A partir du vingtième jour enviro l'acide oxalique, alors qu'il ne reste plus de sucre o seulement une petite quantité, est à son tour utilisé e finit pour disparaître complètement. L'acidité du qua rantième jour n'est que de 2 cm³, 6 N, alors que l'aci dité correspondant à l'acide oxalique est de 352 : 45 =

7 cm^3, 8 N, une partie de l'acide oxalique doit être alors à l'état combiné, comme dans les cas envisagés précédemment.

On observe un phénomène tout à fait comparable lorsqu'on déséquilibre le milieu de culture en diminuant dans une proportion sensible soit le potassium, soit le soufre, et dans ces différents cas nous assistons à une combustion de sucre s'effectuant en deux phases qui apparaissent très distinctes et qui correspondent à la formation intermédiaire d'un acide organique.

3. Fermentation citrique

L'attention a été attirée par Wehmer sur certaines Mucédinées qui sont capables en présence de sucre de transformer une grande partie de celui-ci en acide citrique; tel est le *Citromyces Pfefferianus* qui a pu être utilisé pour une production industrielle de l'acide en question, car le rendement peut atteindre la moitié du poids du sucre fourni à la Moisissure. Les travaux de Mazé et Perrier ont précisé certaines des conditions dans lesquelles s'effectue la transformation du sucre en acide citrique; cette transformation n'est d'ailleurs pas l'œuvre exclusive des *Citromyces*, qui morphologiquement ne sont autre chose que des *Penicillium*, plusieurs Mucédinées telles que le *Sterigmatocystis nigra* peuvent également produire le même acide lorsque certaines conditions sont réalisées (Molliard). L'une de celles-ci consiste dans un déséquilibre de la solution nutritive normale produite par une importante réduction dans la dose d'azote offerte au mycé-

lium, supposons par exemple qu'on ne donne au mycélium que le $\frac{1}{20^e}$ de l'azote nécessaire à son entier développement, le poids de la récolte est naturellement très abaissé, et on observe d'autre part que l'acidité du milieu croît régulièrement, il est aisé de constater qu'elle est due à une petite quantité d'acide oxalique libre restant toujours inférieure à 100 mg, mais surtout à une énorme production d'acide citrique, qui peut atteindre jusqu'à 1200 mg au bout de quinze jours, dans une culture qui a reçu 7 grammes de sucre.

On observe des résultats analogues lorsqu'on réalise un ralentissement dans le développement d'une culture par l'addition d'acide chlorhydrique, soit que celui-ci soit ajouté dès le début, soit qu'il provienne de la décomposition du chlorure d'ammonium adopté comme source d'azote : dans ce cas, il ne se produit plus trace d'acide oxalique. Il se forme encore de l'acide citrique, en même temps que de l'acide oxalique, quand la dose de Phosphore est réduite $\frac{1}{25^e}$ du taux normal.

Lorsque tout le sucre a disparu dans le milieu de culture l'acide citrique est à son tour oxydé, comme l'était l'acide oxalique dans les expériences précédentes.

4. Fermentation gluconique

Le *Sterigmatocystis nigra* peut encore produire à partir du saccharose un acide organique dérivant du glucose par un minimum d'oxydation, il s'agit de

l'acide gluconique $CH^2OH - (CHOH)^4 - CO^2H$, qui apparaît seul lorsqu'on vient à cultiver la Mucédinée sur un liquide ne contenant pour la dose normale de sucre, qu'une faible fraction, le $\frac{1}{25^e}$ par exemple, de toutes les autres substances nécessaires, azote et différents éléments minéraux (MOLLIARD), le liquide acquiert rapidement une forte acidité due exclusivement, au moins au début, à l'acide gluconique, dans une culture où il a été introduit 14 grammes de saccharose, le poids d'acide gluconique peut atteindre jusqu'à 8 grammes, plus tard, il se forme également un peu d'acide citrique

De telles cultures en milieux déséquilibrés déterminent donc la formation et l'accumulation de produits d'oxydation plus ou moins intense, qui apparaissent comme autant de stades de l'oxydation ultime caractérisant le phénomène respiratoire, ces phases sont en résumé les suivantes pour le *Sterigmatocystis nigra*

1° Quand on diminue la dose de toutes les substances nécessaires à l'utilisation normale du poids de saccharose fourni, on assiste à la formation d'acide gluconique

2° Si on diminue seulement la dose d'azote, c'est l'acide citrique qui devient prédominant

3° Si c'est le phosphore qui est fourni en quantité insuffisante, il y a production à la fois d'acide citrique et d'acide oxalique

4° La réduction porte-t-elle uniquement sur le potassium, c'est l'acide oxalique qui se forme surtout.

5° Enfin avec le liquide normalement équilibré,

l'oxydation se traduit uniquement par un dégagemen de gaz carbonique, sans accumulation aucune d'acide organiques

L'expérience montre d'ailleurs que les acides gluco nique, citrique et oxalique peuvent se comporte comme des sources de carbone pour le *Sterigmatocysti nigra*, ils sont alors en partie transformés en gaz car bonique, ce qui achève de nous autoriser à les regarde comme autant de produits intermédiaires du phéno mène respiratoire

Il est remarquable de constater la spécificité de acides organiques formés par combustion incomplèt du sucre, suivant que c'est l'azote, le phosphore, l potassium ou encore l'ensemble des éléments autre que le carbone qui se trouvent fournis en quantit insuffisante et il est impossible de ne pas compare ce qui se produit ici avec le rôle des différents élé ments se comportant comme des substances cataly tiques dans diverses réactions cellulaires, la manièr dont nous verrons que les phosphates interviennen dans la fermentation alcoolique donne à penser qu' doit s'agir ici d'une fonction analogue des différent éléments dans la fonction respiratoire

Nous voilà d'autre part ramenés par les propriété du *Sterigmatocystis nigra*, qu'il s'agisse de l'acid oxalique ou de l'acide citrique, à quelque chose d tout à fait comparable à ce qui se passe chez les végé taux supérieurs considérés successivement pendant l nuit et pendant le jour, il est raisonnable d'admettr que les conditions valant pour le *Sterigmatocysti nigra* valent pour les plantes vasculaires, il se pour rait que la formation d'acides organiques pendant l

nuit soit due à une inanition en quelque élément nécessaire à la combustion complète des sucres, inanition qu'on pourrait expliquer par un ralentissement ou même un arrêt dans l'ascension de la sève ; l'expérience décidera s'il en est bien ainsi

5. Fermentations par oxydation portant sur des substances minérales

Tous les phénomènes d'oxydation que nous venons de considérer, qui se produisent aux dépens de substances externes et qui sont pour les végétaux des sources d'énergie au même titre que la respiration proprement dite, portent sur des matières organiques ; beaucoup d'autres correspondent à l'oxydation de substances minérales

Sulfobactéries

C'est en particulier le cas des Sulfobactéries, telles que les *Beggiatoa* (fig 39) et le *Chromatium Okenii* qu'on rencontre dans les eaux chargées de gaz sulfhydrique ; elles sont communes dans les eaux douces sulfureuses, on les a trouvées également dans les eaux de la Mer Noire ; on peut se les procurer aisément en laissant se décomposer dans un vase rempli d'eau chargée de sulfate de calcium des débris végétaux ; lorsque par suite de la réduction du sulfate de calcium, il s'est formé de l'acide sulfhydrique, les sulfobactéries se développent ; leur multiplication est également liée à la présence de l'acide sulfhydrique dans la mer ; on trouve en effet dans la Mer Noire les quan-

tités suivantes d'hydrogène sulfuré à diverses profondeurs (cm³ pour 100[l] d'eau)

200m	30 cm³ H^2S
425m	222 —
1900m	550 —
2500m	650 —

Les Sulfobactéries forment une couche membraneuse à quelque distance de la surface et au-dessus d'elles on ne trouve plus trace d'hydrogène sulfuré

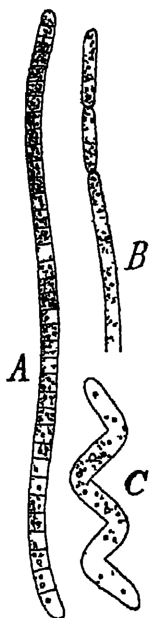
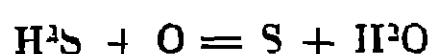


Fig. 39. — Bactéries sulfureuses. A, *Beggiatoa alba*

Si nous étudions histologiquement les bactéries sulfureuses, nous constatons l'existence dans leur protoplasme de nombreuses gouttelettes de soufre, solubles dans le sulfure de carbone. Des essais de culture de ces microorganismes sur un milieu riche en substances organiques ne donnent aucun résultat (Winogradski), le sulfate de calcium n'apparaît pas non plus comme alimentaire, mais si on les place dans de l'eau chargée d'hydrogène sulfuré, on les voit se multiplier rapidement, leur développement s'arrête quand tout l'acide sulfhydrique a disparu, de plus, alors qu'il s'est constitué du soufre dans les cellules en présence de l'hydrogène sulfuré ce soufre disparaît en l'absence de H^2S et il se forme de l'acide sulfurique,

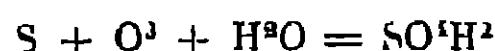
s'il existe du carbonate de calcium dans le liquide, il se trouve transformé en sulfate de calcium.

On est donc amené à admettre les deux réactions oxydantes suivantes :



$$H^2S + O = S + H^2O$$

et



$$S + O^3 + H^2O = SO^4H^2$$

Ces bactéries ont par suite besoin d'oxygène pour leur développement, mais l'optimum de pression de l'oxygène est assez faible, ce qui explique que ces organismes se trouvent toujours à quelque profondeur dans les eaux où ils se rencontrent.

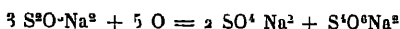
On a pu évaluer au quart du poids du protoplasme la quantité de soufre fabriqué par les *Beggiatoa* dans une journée.

La transformation de l'hydrogène sulfuré en soufre, puis en acide sulfurique, est une réaction qui apparaît comme fournissant aux Sulfobactéries l'énergie nécessaire pour leur croissance et remplaçant la respiration que nous avons appris à connaître pour les végétaux ordinaires, il en résulte que les besoins en carbone des bactéries sulfureuses sont très faibles puisqu'elles ne l'utilisent que pour la formation de leur protoplasme, en fait il suffit, en dehors des matières minérales et de l'hydrogène sulfuré, de leur fournir des traces d'azote ammoniacal ou nitrique et 0,0005 p. 100 de matière organique.

La respiration des Sulfobactéries se distingue donc de celle que nous avons étudiée, en ce que la matière oxydée est de nature minérale et qu'elle est extérieure à la plante.

Dans les conditions naturelles, les Sulfobactéries ont pu déterminer la formation de gisements de gypse aux dépens de couches de calcaire et ont ainsi joué un certain rôle géologique

Un autre groupe de Sulfobactéries, découvertes dans le golfe de Naples, a la propriété d'oxyder les thiosulfates et de les transformer en sulfate et tétrathionate



$$3\ S^2O^3Na^2 + 5\ O = 2\ SO^4Na^2 + S^4O^6Na^2$$

On peut les isoler et les cultiver avec de la gélose additionnée d'eau de mer et de thiosulfate de sodium

Le *Thiobacillus thioparus* est capable de son côté de décomposer non seulement les thiosulfates, mais les sulfures, tels que le sulfure de calcium, l'hydrogène sulfuré et les tétrathionates, c'est ainsi que les thiosulfates donnent du soufre et du sulfate



$$S^2O^3Na^2 + O = SO^4Na^2 + S$$

Le soufre apparaît en dehors des cellules et peut être oxydé à son tour, mais par d'autres bactéries, l'oxydation se produit en particulier aux dépens de nitrates, on a par exemple



$$6\ AzO^3K + 5\ S + 2\ CO^3Ca = 3\ SO^4K^2 + 2\ SO^4Ca + 2\ CO^2 + 3\ Az^2$$

On connaît de même certaines bactéries capables d'oxyder deux gaz qui apparaissent souvent dans les transformations de matières organiques, le méthane CH^4 et l'hydrogène Le *Bacillus methani* est autotrophe, une partie du carbone du méthane est employée pour l'édification des cellules, le reste est oxydé et se dégage à l'état de gaz carbonique Une solution purement minérale de 100 cm³, ensemencée par ce bacille, utilise en quatorze jours environ 225 cm³ de méthane

dont 125 servent à la construction du protoplasme et 100 cm³ sont transformés en gaz carbonique, il y a une absorption correspondante de 150 cm³ d'oxygène

Bactéries ferrugineuses

Les bactéries dites ferrugineuses se comportent vis-à-vis des sels ferreux d'une manière analogue à celle qui caractérise l'action des bactéries sulfureuses sur l'hydrogène sulfuré, par leur intervention il y a oxydation du protoxyde de fer en sesquioxyde, c'est de la sorte que se constituent certains minerais de fer, correspondant à la limonite

On sait que le fond de certaines eaux est quelquefois tapissé d'une couche couleur de rouille, il y existe en abondance du *Leptothrix ocracea* et c'est dans la gaine gélatineuse des éléments de cet organisme que s'accumule le sesquioxyde formé par oxydation à partir du carbonate ferreux

WINOGRADSKY a également signalé cette propriété chez le *Crenothrix Kuhniana* et le *Cladothrix polymorpha*, l'auteur en question voit dans cette transformation chimique un phénomène protoplasmique de même ordre que celle qui est présentée par les bactéries sulfureuses Il convient d'ajouter que cette manière de voir n'a pas été adoptée par tous les physiologistes, MOLISCH en particulier estime que le protoplasme n'intervient pas dans la formation de l'oxyde de fer, qui se trouve absolument localisé dans la gaine gélatineuse, que sa production n'est nullement nécessaire à la vie des bactéries et que d'autres substances tellés que les combinaisons de manganèse, peuvent présenter une transformation semblable

C'est encore d'une oxydation tout à fait analogue, et intimement liée au développement des êtres qui la présentent, qu'il s'agit en ce qui concerne les bactéries nitreuses et nitriques, dont l'ensemble produit le phénomène de la nitrification dans le sol, c'est-à-dire la transformation des sels ammoniacaux en azotates Le rôle de ces bactéries sera traité à propos du cycle de l'azote ; nous avons déjà eu l'occasion de signaler leur caractère autotrophe

TROISIÈME PARTIE

FERMENTATIONS N'IMPLIQUANT PAS DE FIXATION D'OXYGENE

CHAPITRE IX

FERMENTATION ALCOOLIQUE

Toutes les fermentations qui viennent d'être envisagées sont reliées à la respiration normale par le fait qu'il s'agit toujours d'un phénomène d'oxydation, mais il n'en est pas toujours ainsi pour toutes les transformations subies par une série de substances ternaires, bien qu'il s'agisse toujours de fermentations en ce cens qu'on a encore à faire à des réactions exothermiques provoquées par des cellules vivantes et portant sur des masses de matière décomposée sans rapport avec la masse de protoplasme construit L'étude détaillée de ces fermentations nécessiterait un développement considérable, notre intention est d'en donner une idée générale et de montrer quelle lumière leur connaissance apporte à la physiologie végétale

La fermentation alcoolique, l'une des mieux connues, nous fournira un premier exemple

1 Aspect général du phénomène

Si on introduit dans un liquide glucosé, contenu dans un flacon (fig 40), diverses espèces de Levures (*Saccharomyces*) telles que *S Cerevisiæ* (Levure de bière) (fig 41) on constate que le sucre est dédoublé en gaz carbonique et alcool éthylique, le phénomène est particulièrement rapide vers 25°, les deux corps

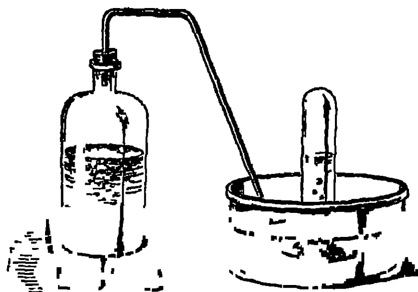


Fig 40 — Fermentation alcoolique, le gaz carbonique se dégage dans l'éprouvette de droite

que nous venons de signaler sont du moins les produits les plus importants, quantitativement parlant, qui se constituent, et dans une première approximation très satisfaisante, on peut représenter la réaction par l'équation suivante (GAY-LUSSAC)



$$C^6H^{12}O^6 = 2\ CO^2 + 2\ C^2H^5\ OH$$

Si on fournissait du saccharose à la Levure, ce disaccharide serait d'abord interverti par le *S Cerevisiæ* et le glucose et le lévulose résultant subiraient tous deux la même décomposition alcoolique

C'est ce dégagement de gaz carbonique, qui est très intense dans cette expérience, qui a fait donner à des réactions tumultueuses de cette nature le nom de fermentations, dénomination qui s'est étendue ensuite à

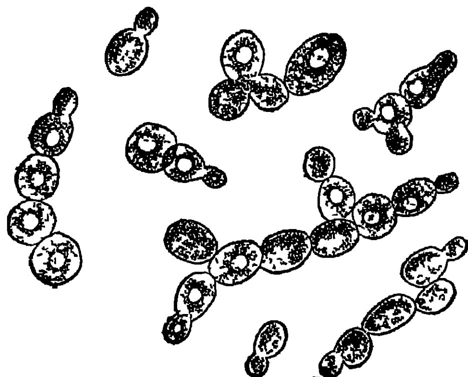


Fig. 41. — Levure de bière (*Saccharomyces Cerevisiæ*)

toutes les transformations externes opérées par les microorganismes, alors même qu'elles ne sont pas accompagnées d'un dégagement gazeux.

Nous avons donc affaire, avec la fermentation alcoolique, à un dédoublement de la substance décomposée, sans fixation d'oxygène.

Si nous n'introduisons qu'une petite quantité de cellules de Levures dans le liquide sucré, il est nécessaire de fournir au végétal, pour son développement, un certain nombre de substances minérales ; l'azote peut lui être donné sous la forme de tartrate, de phosphate, d'azotate d'ammonium ou de peptone ; il faut de plus du soufre, du phosphore, du potassium, du

magnésium et du fer, comme aliment organique on peut lui fournir de l'acide tartrique, à côté de ces aliments plastiques le glucose se comporte à la fois comme plastique et comme énergétique, la formule suivante donne un exemple de la composition d'un tel liquide

Eau	1000
Glucose	150
Azotate d'ammonium	7,5
Phosphate bipotassique	5
Sulfate de magnésium	0,5
Phosphate bicalcique	0,5

On peut encore ajouter à du glucose et du tartrate d'ammonium une décoction de cendres de Levure, qui contient les matières minérales nécessaires au végétal et dans les proportions même où elles y existent

Nous sommes donc en présence dans une telle culture des deux sortes de phénomènes chimiques qui caractérisent tout être vivant, réactions synthétiques se traduisant par l'élaboration de substances relativement complexes dont l'ensemble constitue le protoplasme de nouvelles cellules, et réactions analytiques, dont la plus importante aboutit à la formation de gaz carbonique et d'alcool, et qui fournissent l'énergie nécessaire aux réactions de la première catégorie

Pour nous faire une idée plus exacte du phénomène de la fermentation alcoolique, modifions l'expérience précédente faite dans des conditions moyennes, plaçons le liquide dans une fiole conique très large à sa partie inférieure, de façon à ce que le liquide présente une faible épaisseur et une large surface libre, dans ces conditions, l'aération est aussi considérable que possible, on observe encore un dégagement de gaz

carbonique, mais il n'apparaît plus d'alcool, de plus le poids de Levure formée est relativement considérable par rapport au poids de glucose disparu, ce rendement est en effet d'environ $\frac{1}{4}$ Nous nous trouvons en présence d'un phénomène d'oxydation du sucre tout à fait semblable à celui qui apparaît dans la respiration normale, aérobie, d'un végétal supérieur On

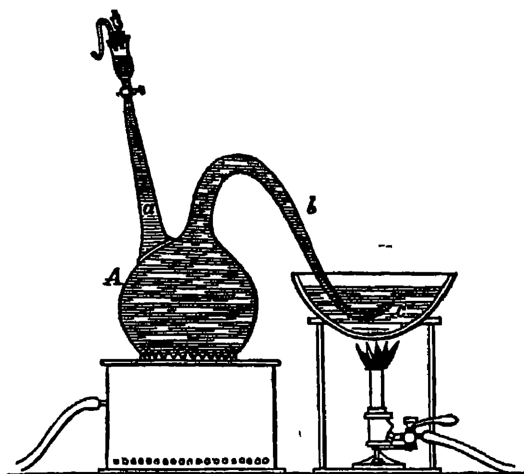


Fig 42 — Fermentation alcoolique à l'abri de l'air

observe de plus que dans de telles conditions, la Levure est capable de vivre aux dépens de nombreuses substances organiques autres que le glucose

Faisons en sorte, au contraire, de ne laisser à la disposition de la Levure ensemencée qu'une très faible quantité d'oxygène, remplissons à cet effet avec le

liquide nutritif sucré, un ballon ainsi que le tube à dégagement qui le prolonge (fig 42) et après avoir chassé l'air dissous par ébullition et laissé refroidir le liquide, ensemençons celui-ci à l'aide d'une petite quantité de Levûre introduite par la tubulure latérale munie d'un robinet, la faible quantité d'oxygène qui peut encore rester dans le liquide, va se trouver rapidement utilisée et la Levûre va se trouver dans une condition anaérobie, elle va se comporter comme un ferment alcoolique et l'équation précédemment écrite se vérifie de façon très satisfaisante, le rendement en substance sèche est par contre très affaibli et sa valeur comprise entre $\frac{1}{80}$ et $\frac{1}{175}$.

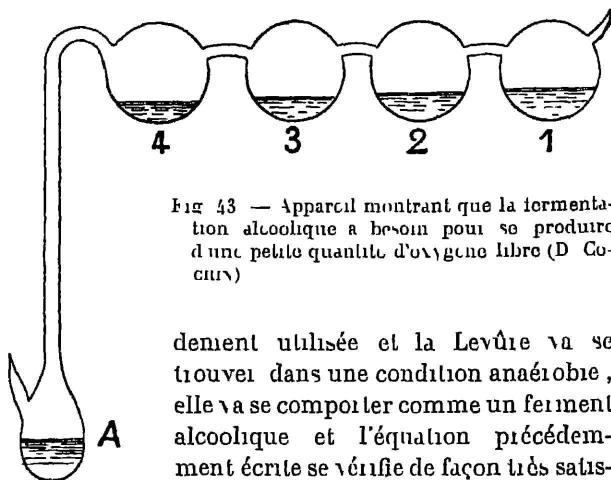


Fig 43 — Appareil montrant que la fermentation alcoolique a besoin pour se produire d'une petite quantité d'oxygène libre (D Cochin).

Pour une même quantité de sucre décomposé, la partie de l'énergie produite qui devient apparente sous forme de chaleur est du reste beaucoup plus considérable dans les meilleures conditions d'aération qu'à l'abri de l'oxygène, c'est ainsi qu'on constate à l'air

une élévation de température de 4°, alors qu'elle n'est que de 0°,5 dans le second cas

Il ne s'agit pas d'ailleurs avec la Levure de bière d'un organisme complètement anaérobie Introduisons (D Cochin) un liquide fermentescible dans une série de quatre boules 1, 2, 3, 4 (fig 43) reliées par un tube et en relation avec un ballon A contenant de la lessive

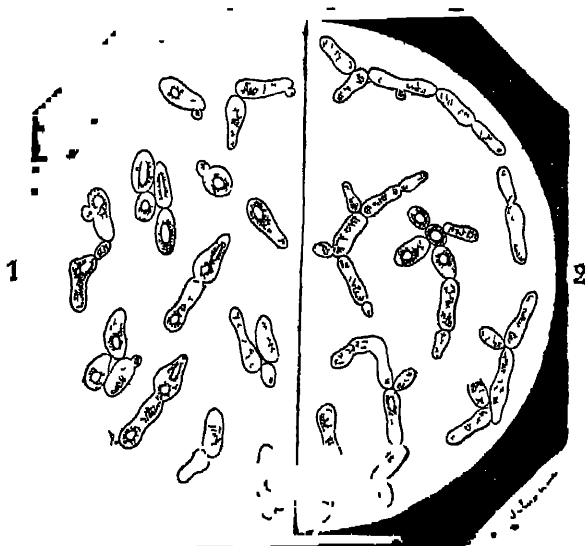


Fig 44 — *Saccharomyces pastorianus*

de potasse qui servira à absorber le gaz carbonique qui va se produire et empêchera ainsi une augmentation de pression

Faisons le vide dans l'ensemble après avoir ense-

mencé le liquide de la boule 1 et scellons à la lampe les deux extrémités de l'appareil, nous constatons une très légère fermentation, quelque temps après, ensemençons le liquide 2 avec une goutte du liquide 1 et séparons la boule 1 à la lampe, la fermentation qui se produit est encore plus faible et si nous ensemençons 3

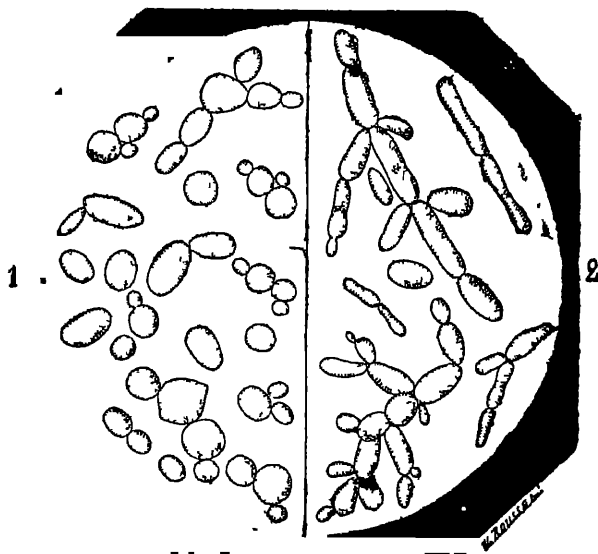


Fig. 45 — *Saccharomyces ellipsoideus*

avec 2, il ne se produit plus aucun dégagement de gaz carbonique. La fermentation a donc besoin pour se produire d'une petite quantité d'oxygène, la Levure n'est d'ailleurs pas morte dans le vide et la fermentation a lieu si on fait rentrer de l'air.

Il n'y a que des sucres qui soient capables de fermenter, mais toutes les substances de cette catégorie ne présentent pas la propriété envisagée Dans les conditions naturelles il n'y a que certains hexoses et les polysaccharides leur donnant naissance qui soient capables de fermenter, parmi les aldoses ce sont uni-

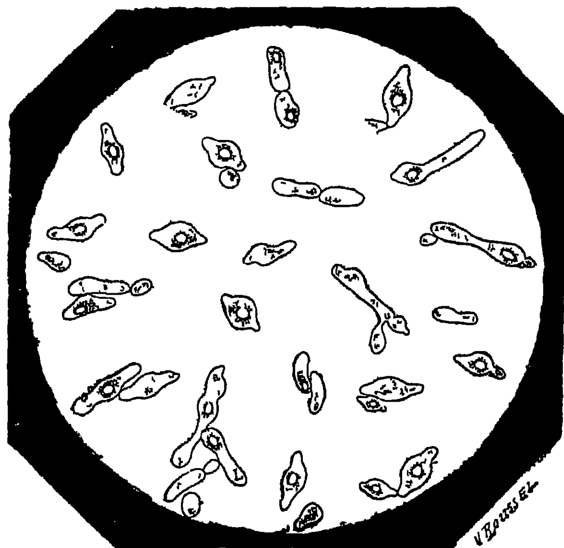


Fig 46 — *Saccharomyces apiculatus*

quement des substances dextrogyres qui sont fermentescibles, ce sont le d-glucose, le d-mannose et le d-galactose, parmi les cétoses, il n'y a que le lévulose qui présente cette propriété, de plus si le glucose, le mannose et le lévulose sont transformés par toutes les

espèces de Levures, le galactose l'est normalement par le *S. pastorianus* (fig. 44), mais le phénomène est très lent avec le *S. ellipsoideus* (fig. 45) et ne se produit plus en présence de *S. apiculatus* (fig. 46).

Quant aux disaccharides indirectement fermentescibles, ils se comportent également d'une manière variée avec les espèces de Levures, suivant les propriétés digestives de celles-ci. Le saccharose est interverti et par conséquent fermente sous l'action de Levures de bière et de vin (*S. apiculatus*, *S. ellipsoideus*), le glucose est d'ailleurs ordinairement plus vite dédoublé que le lévulose. Certaines espèces (*S. Ludwigii*) n'agissent que sur le saccharose parmi les disaccharides, d'autres au contraire dédoublent également le maltose (*S. apiculatus*, *Schizosaccharomyces octosporus*), le lactose et certaines le tréhalose.

Le raffinose est fermentescible ; l'amidon ne l'est que sous l'action de certaines Levures capables de le digérer.

Les différentes espèces de Levures se distinguent d'autre part d'après la concentration maxima d'alcool qu'elles sont capables de réaliser et qui se trouve limiter le phénomène.

Ajoutons enfin que l'alcool éthylique et le gaz carbonique ne sont pas les seules substances formées aux dépens des sucres ; il apparaît encore dans le liquide des alcools supérieurs (propylique, isobutylique, amylique), de l'acide succinique $CO^2H - CH^2 - CH^2 - CO^2H$, de la glycérine, de l'aldéhyde acétique, des éthers, du furfurol, etc. ..., la formule que nous avons donnée n'est donc qu'approchée.

Établissons un bilan plus exact, en faisant fer-

menter 10 grammes de saccharose (soit 10,525 de sucre interverti), on devrait obtenir d'après cette formule 5 gr 380 d'alcool et 5 gr 135 de gaz carbonique, or on trouve

Alcool	5 g 110
Gaz carbonique	4 g 920
Glycérine	o g 340
Acide succinique	o g 065
Substance sèche de la levure formée	o g 130
Total	10 g 565

Ce total est légèrement supérieur au poids de sucre interverti introduit, la chose s'explique aisément par le fait qu'on a négligé l'utilisation des éléments des cendres et de la matière azotée mises à la disposition de la Levure

Nous supposons d'ailleurs dans ce qui précède que la quantité de Levure employée pour ensemencer le liquide sucré est très minime par rapport au poids de la substance fermentescible, quand il en est autrement, on trouve pour la somme d'alcool et de gaz carbonique produits un nombre sensiblement supérieur au poids du sucre employé, cela tient à ce que la Levure, après avoir utilisé le sucre mis à sa disposition, a ensuite décomposé la réserve sucrée qu'elle contient, le glycogène, il s'est produit un phénomène d'autophagie ou autofermentation

2 L'alcoolase

Le phénomène de la fermentation alcoolique a pu être ramené à une action diastasique, Buchner a réussi en effet à extraire des Levures une substance

qui reproduit *in vitro* la fermentation du sucre, grâce à la découverte de cette substance on a pu pénétrer plus avant dans le mécanisme intime du phénomène et celui-ci est apparu beaucoup plus complexe qu'on ne l'avait tout d'abord supposé

L'extraction de la substance active dont il s'agit est assez pénible, ce n'est qu'en broyant et déchirant les cellules de Levure et en les soumettant ensuite à une très forte pression qu'on peut réaliser son obtention Pratiquement, BUCHNER a préparé le suc de Levure en s'adressant à de la Levure de brasserie fraîche, elle est lavée deux ou trois fois par décantation, comprimée au filtre-presse, puis soumise à une pression de 50 kilogr par cm^2, il en résulte une masse friable qu'on mélange à du sable fin et à de la terre d'infusoires, la poudre ainsi obtenue est à nouveau broyée dans un mortier et on obtient une masse humide, adhérant au pilon et d'une couleur brun foncé, enveloppée ensuite dans un linge résistant, elle est soumise à la presse hydraulique à une pression de 90 kgs par cm^2

Le suc qui s'écoule est reçu dans un filtre en papier qui arrête le sable et les cellules de Levure, on le reçoit dans un récipient placé dans de l'eau glacée, le rendement est d'environ 20 p 100 de la Levûre sèche

Ce suc est visqueux, opalescent, d'un brun jaune, si on l'introduit dans une solution de glucose, on provoque la fermentation de ce sucre, plus lente à la vérité qu'en présence de cellules vivantes, 40 fois environ plus faible qu'avec la quantité de Levure qui correspond à la masse de jus employé, mais pré-

sentant absolument les mêmes caractères, le rapport entre les quantités d'alcool et de gaz carbonique produits est en particulier le même

Il y a lieu de remarquer d'ailleurs que le jus de Levure peut produire une fermentation alcoolique sans addition de sucre, il s'agit du phénomène d'autofermentation que nous avons déjà signalé et qui correspond à l'utilisation du glycogène contenu dans le jus lui-même

L'objection qui a été faite de la présence dans un tel liquide de cellules entières vivantes ou de débris de protoplasme restés vivants est levée par le fait que le liquide est encore actif, bien qu'à un degré moindre, après filtration à travers une bougie de porcelaine dégourdie, de même BUCHNER a montré que la fermentation alcoolique continue à se produire lorsqu'on fait agir des antiseptiques qui arrêtent la fermentation des cellules vivantes, d'autre part, le mode d'intervention de ces antiseptiques empêche de rapporter la fermentation alcoolique à des micro-organismes étrangers qui se développeraient dans le jus de Levure

On arrive à conserver beaucoup plus longtemps les propriétés du jus de Levure en le desséchant à 35° dans le vide, la poudre ainsi obtenue peut garder son activité pendant un an au moins

On obtient également une matière solide active en précipitant le jus de Levure par de l'alcool ou de l'acétone, la substance solide obtenue par cette précipitation, suivie de centrifugation et de dessiccation, est entièrement soluble dans la glycérine

La **zymine** est une préparation qu'on réalise sans

déterminer la déchirure des cellules de Levure, elle est obtenue en traitant la Levure fraîche pressée par l'acétone, en pulvérisant ensuite les cellules et traitant par l'éther, par une nouvelle dessiccation, on a une poudre blanche qui a toutes les propriétés fermentaires de la Levure fraîche, mais qui est complètement dépourvue de toute faculté de croissance

Le suc de Levure ou la zymine contient donc une diastase capable de provoquer la fermentation alcoolique, cette diastase a reçu les noms de zymase ou d'alcoolase, elle rentre dans la catégorie des *clastases*, c'est-à-dire des diastases déterminant un dédoublement de la substance qu'elles décomposent, sa découverte ramène un nouveau phénomène biologique à une réaction chimique ordinaire et, d'autre part, permet de l'étudier de plus près

Le suc de Levure est un liquide complexe et, en outre de l'alcoolase, il contient différentes substances qui interviennent pour hâter ou retarder la fermentation alcoolique

Si on vient à filtrer le suc à travers un filtre très fin de gélatine, on obtient un liquide filtré et un résidu, ce dernier contient de l'albumine, du glycogène, des dextrines, du phosphore combiné et en outre certaines diastases telles qu'une trypsine et l'hexosephosphatase dont il sera question plus loin, sa solution aqueuse est sans action sur le glucose qu'il ne fait pas fermenter, ou d'une manière très légère et très fugace Il en est de même du liquide filtré, mais on peut provoquer une fermentation alcoolique normale en réunissant le résidu et le filtrat, on arrive au même résultat en ajoutant au résidu du suc

de Levure bouilli qui est cependant lui-même dénué de tout pouvoir fermentaire, on obtient par exemple dans les diverses conditions envisagées les volumes suivants pour le gaz carbonique produit

		Gaz carbonique (cm³)
Résidu lavé		0,4
—	+ filtrat	90,[illegible]
—	+ suc bouilli	[illegible]68

Il y a donc dans le filtrat et dans le suc bouilli une codiastase qui est nécessaire au fonctionnement de la diastase contenue dans le résidu ; l'expérience a montré qu'il ne s'agit pas ici de l'intervention des phosphates dont nous allons avoir à étudier l'action, rien n'est changé, en effet, aux résultats précédents si on a soin d'ajouter la quantité de phosphate qui est nécessaire pour une fermentation normale La substance qui passe à travers les filtres employés et qu'on peut séparer par dialyse du suc de Levure, qui n'est pas détruite par l'ébullition, n'est pas connue au point de vue de sa composition chimique ; on sait cependant qu'elle est détruite par l'addition d'une émulsion contenant la lipase de graine de Ricin ; il s'agit donc très vraisemblablement d'une combinaison organique lipoïdique du groupe des éthers-sels ; un contact prolongé avec du carbonate de potassium détruit également la puissance régénératrice de la substance vis-à-vis du résidu Quoi qu'il en soit, nous arrivons à la notion que la fermentation alcoolique nécessite la présence de l alcoolase et d'une codiastase et que c'est de leur complexe que résulte le phénomène que nous envisageons

Mais la complexité est encore plus grande, si nous

abandonnons du suc frais à la température ordinaire, nous constatons qu'il perd son action au bout d'un jour ou deux ; le fait doit être rapporté à l'action d'une diastase protéolytique, une endotrypsine ; on ne peut conserver le suc avec son activité qu'à une température très basse et à l'abri du contact de l'air ou par dessiccation.

On a constaté d'ailleurs qu'une trypsine animale produit le même effet et provoque également la disparition de l'alcoolase, comme celle des autres matières protéiques du jus de Levure, le rendant ainsi inactif ; d'autre part, toutes les substances inhibant l'action des diastases protéolytiques favorisent la fermentation alcoolique.

Ajoutons que le suc bouilli, ajouté de suite au jus de Levure, préserve celui-ci pendant plusieurs jours contre la disparition de son activité ; or, si on fait agir du suc bouilli sur de la gélatine, on constate que celle-ci se trouve protégée contre la liquéfaction qu'opère le jus de Levure ; le jus bouilli apparaît donc comme protégeant la zymase et les substances protéiques vis-à-vis de l'action de l'endotrypsine dont nous venons de signaler la présence dans le jus de Levure ; on admet, en conséquence, la présence dans le jus bouilli d'une antiprotéase.

On reconnaît donc l'existence d'au moins quatre substances dans le suc de Levure intervenant dans la fermentation alcoolique, l'alcoolase, la codiastase, l'endotrypsine et l'antiprotéase ; nous allons voir que ce ne sont pas les seules.

3 Rôle des phosphates

L'attention a été en particulier attirée (Harden et Young, Iwanoff, Lebedeff) sur l'intervention utile et même nécessaire, dans le phénomène de la fermentation alcoolique, des phosphates et spécialement du phosphate de soude, si on vient à ajouter à du glucose, lévulose ou mannose en voie de fermentation un phosphate soluble, on constate que la vitesse de production d'alcool et de gaz carbonique peut devenir vingt fois plus considérable qu'elle n'était primitivement

Il est nécessaire dans ces expériences d'employer un biphosphate PO^4HM^2 saturé au préalable de gaz carbonique, les phosphates acides de formule PO^4H^2M gênent en effet par leur acidité la fermentation et, d'autre part, les phosphates absorbent un grand volume de gaz carbonique avec production d'un bicarbonate, ce qui constitue une cause d'erreur dans l'appréciation de la quantité de gaz carbonique formé



$$PO^4HM^2 + CO^3H^2 = CO^3MH + PO^4H^2M$$

Si on mélange 25 cm³ de suc de Levure et 25 cm³ d'une solution de glucose contenant 5 gr de sucre, on obtient pour les vitesses de dégagement du gaz carbonique la courbe A (fig 47), ajoute-t-on 5 cm³ d'une solution 0,3 M de phosphate de sodium, on obtient la courbe B, la vitesse moyenne correspondant à la courbe A est d'environ 1 cm³ 4 par cinq minutes,

la vitesse maxima de la courbe B est de 9 cm³ 5, elle décroît ensuite et redevient au bout de soixante-dix minutes environ à la valeur primitive de 1,4. Si à ce moment on opère une nouvelle addition de phosphate de sodium, on observe une

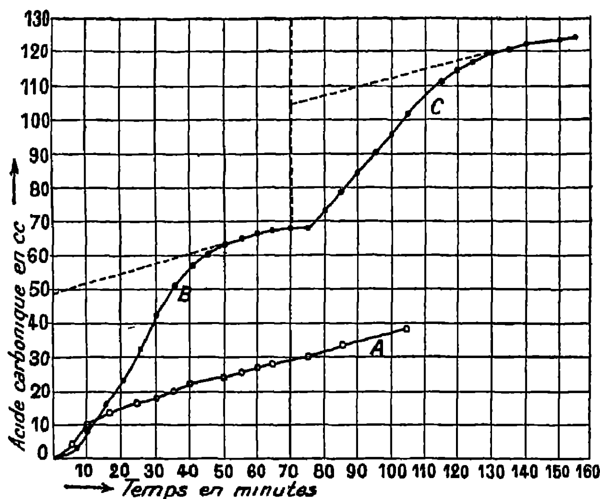


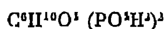
Fig. 47. — Courbes représentant l'intensité de la fermentation alcoolique déterminée par le suc de levure, A sans addition, B avec addition de phosphate de sodium.

nouvelle augmentation de la vitesse de la fermentation (Courbe C).

Il existe, d'autre part, un rapport constant entre la quantité de phosphate introduit et celle du gaz carbonique et de l'alcool supplémentaires formés, ce qui

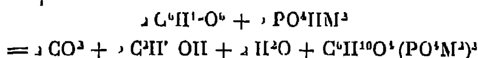
amène à l'idée qu'il se produit une réaction chimique entre le sucre et le phosphate.

On constate d'ailleurs que lorsque la fermentation est redevenue normale, dans une expérience analogue à celle que nous venons de décrire, la totalité du phosphate passe à la filtration, mais qu'il n'est plus qu'en faible partie à l'état minéral, le reste ne précipite plus par le citrate ammoniaco-magnésien ni par l'acétate d'urane, il précipite par contre par les sels de plomb et le composé obtenu a la formule $C^6H^{10}O^4(PO^4Pb)^2$, on peut régénérer la substance initiale par l'hydrogène sulfuré et on obtient un acide hexose-diphosphorique



$$C^6H^{10}O^4(PO^4H^2)^2$$

La relation quantitative qui existe entre le gaz carbonique et l'alcool produits ainsi que la formule de ce composé amènent à écrire comme formule de la fermentation alcoolique l'équation



$$2\,C^6H^{12}O^6 + 2\,PO^4HM^2 = 2\,CO^2 + 2\,C^2H^5OH + 2\,H^2O + C^6H^{10}O^4(PO^4M^2)^2$$

On est ainsi conduit à voir dans les phosphates solubles des corps intervenant d'une manière nécessaire dans la fermentation alcoolique et si la fermentation a encore lieu en présence du suc de Levure, sans addition voulue de phosphate, il est vraisemblable que cela tient à ce que le suc en question contient des substances capables de fournir des phosphates libres.

Si on vient à suivre la marche de la teneur en phosphate libre d'un mélange constitué par le suc de

Levure, le sucre et le phosphate disodique, on constate que tout d'abord le phosphate diminue rapidement, à la fin de la période d'accélération, le phosphate libre reste en quantité constante, mais très faible, vient ensuite une troisième période, correspondant à un ralentissement et finalement à la cessation de la fermentation, qui est caractérisée au contraire par une augmentation rapide du phosphate libre, celui-ci se forme alors aux dépens de l'hexosediphosphate

Ces faits amènent à admettre que dans le phénomène de la fermentation alcoolique, le phosphate libre se combine d'abord au sucre et que c'est l'hexosephosphate qui est décomposé au fur et à mesure de sa formation en alcool et gaz carbonique, le composé s'accumule tant qu'il reste suffisamment de sucre libre et vers la fin de la fermentation il régénère le phosphate minéral

Enfin, on a constaté que l'hexosediphosphate peut être hydrolysé par le suc de Levure dialysé et par suite privé de son pouvoir fermentaire, l'agent du dédoublement opéré serait une diastase spéciale, l'hexosediphosphatase

4 Métabolisme intermédiaire

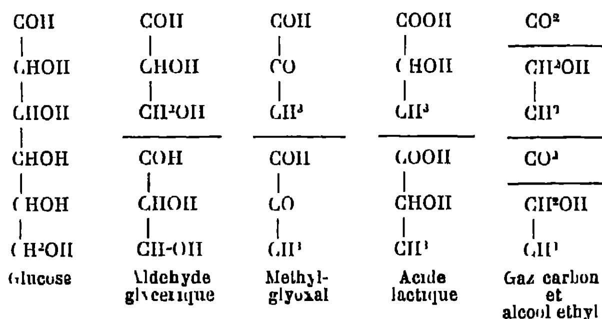
La complexité relativement grande d'une molécule d'hexose, comparée à la simplicité des produits terminaux de la fermentation alcoolique, a conduit à se demander si la décomposition des sucres ne s'effectuerait pas d'une manière progressive, avec formation de produits intermédiaires de moins en moins com-

plexes. On a tout d'abord demandé à des réactions de laboratoire des arguments en faveur de cette manière de voir et on a étudié en particulier l'action des alcalis sur les hexoses capables de fermenter alcooliquement.

Si on traite des solutions d'hexoses par des alcalis, par exemple par une solution normale de soude, à la température ordinaire, on constate qu'au bout d'un temps suffisamment long (50 jours) près de la moitié du sucre est transformée en acide lactique inactif ; il se forme en outre de l'acide propionique et différents acides contenant 6 ou 4 atomes de carbone (MEISENHEIMER). D'autre part, en faisant agir la potasse caustique sur une solution de glucose exposée à la lumière solaire, DUCLAUX a obtenu la formation d'alcool éthylique et de gaz carbonique (2,5 p. 100 du sucre) ; ce dernier auteur fut amené à considérer que ces corps provenaient de l'action de l'alcali sur l'acide lactique et en fait certaines Moisissures peuvent produire de l'alcool aux dépens de l'acide lactique, agissant par conséquent comme la chaux éteinte qui, chauffée avec du lactate de calcium, donne un mélange abondant d'alcool éthylique et d'alcool isopropylique.

L'acide lactique se formerait-il immédiatement aux dépens des hexoses ? On a été amené à penser que le premier produit serait l'aldéhyde glycérique CH^2OH — $CHOH$ — CHO, que celui-ci donnerait par déshydratation du méthylglyoxal $CH^3\ CO\ CHO$ qui, à son tour, aboutirait par hydratation à l'acide lactique $CH^3\ CHOH\ CO^2H$. Enfin, chaque molécule d'acide lactique produit serait dédoublée en alcool éthylique et gaz carbonique ; l'ensemble de ces transformations

peut être représenté par le schéma suivant (BUCHNER et MEISENHEIMER)



En fait, on peut obtenir une fermentation alcoolique de l'acide lactique par l'action du jus de presse de Levûre, mais cette substance ne fermente pas en présence de la Levure vivante. Aussi a-t-on pensé à d'autres corps intermédiaires résultant du dédoublement du glucose et l'attention a été particulièrement attirée sur la dioxyacétone $CH^2OH - CO - CH^2OH$, sur laquelle le jus de presse et la Levure elle-même agissent ; 80-90 p. 100 de cette substance peuvent être ainsi transformés en alcool et gaz carbonique.

Mais il faut reconnaître que toutes les tentatives entreprises pour élucider la série exacte des transformations subies par les sucres dans la fermentation alcoolique n'ont pas encore abouti à une connaissance précise et exempte d'hypothèses des réactions qui se produisent effectivement. Dans toutes ces recherches relatives au métabolisme intermédiaire, qu'elles se rapportent à la fermentation alcoolique ou à toute autre

transformation des matières organiques, on se trouve en présence de difficultés considérables provenant de ce que les produits accessoires qui apparaissent sous l'action d'une cellule végétale ne sont pas forcément des produits intermédiaires de la réaction principale et qu'ils ont d'autant plus de chance d'être des produits définitifs et d'ailleurs inutilisables qu'on les trouve formés en plus grande abondance, les produits vraiment intermédiaires apparaissent au contraire d'autant moins dans le liquide de fermentation que leur utilisation est plus facile, l'établissement des réactions exactes aboutissant à la formation d'alcool et de gaz carbonique à partir d'hexoses est d'une difficulté de même nature que la mise en évidence des produits intermédiaires entre le gaz carbonique de l'air et la formation des sucres dans le phénomène chlorophyllien

Acide pyruvique, carboxylase et réductase — Parmi les produits secondaires de la fermentation alcoolique, nous devons encore dire quelques mots de l'acide pyruvique $CH^3\,CO\,CO^2H$ qu'on a été amené à considérer également comme une substance intermédiaire entre le sucre et l'alcool, on peut admettre qu'il se constitue à partir du méthylglyoxal par oxydation, il se produit non seulement à partir du sucre, mais aussi à partir de l'acide lactique

L'acide pyruvique ou ses sels ont ceci d'intéressant que les Levures peuvent agir sur eux et produire ainsi du gaz carbonique, de l'aldéhyde éthylique et même quelquefois de l'alcool (NEUBERG et KARCZAG) et que cette transformation a pu être rapportée à une diastase particulière, différente de l'alcoolase, il s'agit de la

carboxylase qu'on a pu extraire non seulement des Levures mais encore de certains grains (Blé, Maïs, Lupin) et de diverses Mucédinées (*Sterigmatocystis nigra*)

La carboxylase se distingue de la zymase par le fait qu elle n est détruite que vers 70° C alors que la zymase disparaît à l état de solution par une chauffe à 50°

La transformation de l'acide pyruvique en aldéhyde a posé la question de savoir si l alcool éthylique ne résulterait pas d'une réduction de cette aldéhyde, constituée elle-même à partir des acides α cétoniques tels que l acide pyruvique, c'est une autre façon que celle que nous avons envisagée de considérer le métabolisme intermédiaire de la fermentation alcoolique, contentons-nous de dire à ce sujet que cette réaction réductrice ne serait qu'un cas particulier d'une propriété présentée par les Levures et qui résulte de l'existence d une diastase spéciale, la **réductase**, celle-ci peut agir sur le soufre et les sulfates, à partir desquels il se produit de l'hydrogène sulfuré, elle décolore de même le bleu de méthylène et beaucoup de pigments végétaux (Palladine), les mêmes réactions se produisent également avec de la zymine, mais cessent d'avoir lieu quand celle-ci a été portée à 100°

On voit qu'il existe dans les Levures un nombre considérable de diastases, ce sont l'invertine, la maltase, une glycogénase, une peroxydase, une catalase, une réductase, une protéase et une antiprotéase, une carboxylase, une diastase agissant sur les glucosides, enfin l'alcoolase, sans parler des codiastases ; toutes ces substances se retrouvent associées dans la zymine

Produits accessoires — Nous avons déjà signalé

l'existence dans un liquide fermentant alcooliquement d'une série de substances accessoires, l'huile de fusol, constituée surtout par de l'alcool amylique, l'acide succinique, la glycérine, l'acide acétique, l'aldéhyde acétique, l'acide formique, des éthers, etc..., plusieurs d'entre elles n'apparaissent pas dans la fermentation provoquée par le jus de Levure, ce qui donne à penser qu'elles résultent de réactions liées à la vie cellulaire ; il interviendrait ici des produits d'hydrolyse des matières protéiques, des acides aminés dont nous ferons l'étude ultérieurement ; la chose a été définitivement établie en ce qui concerne l'huile de fusol et l'acide succinique.

La glycérine se forme au contraire sous l'action du suc de Levure et ne paraît pas nécessiter l'intervention de substances azotées.

5. Applications.

Il n'entre pas dans notre intention d'envisager dans le détail l'importance pratique du phénomène de la fermentation alcoolique ; c'est à lui que se rapporte l'obtention de toutes les boissons fermentées et il en est une, la bière, dont la fabrication se trouve être l'application de plusieurs phénomènes de physiologie végétale et constitue une sorte de résumé des fonctions que nous étudions ici.

On part pour l'obtenir de ce que nous avons appris à connaître sous le nom de malt, c'est-à-dire des grains d'orge qui ont été desséchés et broyés, après une courte germination qui a fait apparaître l'amylase. Mis en présence d'eau tiède, ce malt opère la digestion de l'amidon et on obtient ainsi un liquide sucré,

le moût, qu'on aromatise en le faisant bouillir avec des cônes femelles de Houblon, qui présentent une substance amère, la lupuline

Après refroidissement, on fait fermenter ce liquide à base de maltose en y introduisant du *Saccharomyces*

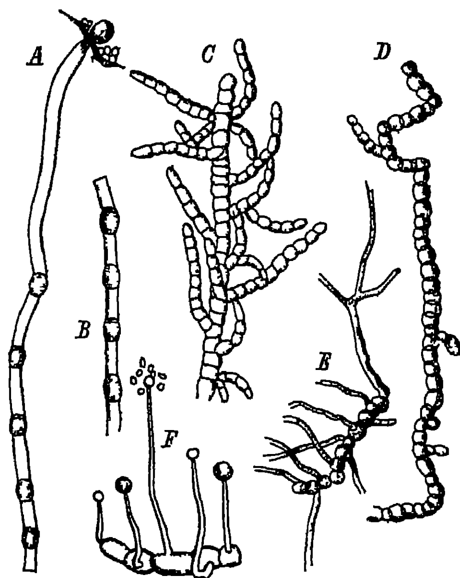


Fig. 48 — *Mucor racemosus*, chlamydospores sur un pédicelle sporangifère (*A*) et sur un filament mycélien ordinaire (*B*), *C* chapelets de chlamydospores

Cerevisiæ, il existe d'ailleurs d'assez nombreuses races de cette Levure, les Levures hautes agissent à des températures de 15-18° et montent à la surface du liquide (bières anglaises et belges), les Levures basses

préfèrent des températures de 5-8° (bières alsaciennes et allemandes) et se maintiennent dans le fond des cuves. On sait que la Levure de bière est employée pour produire une légère fermentation de la pâte de farine destinée à fabriquer le pain ; il se forme des bulles de gaz carbonique dans la pâte qui se trouve *levée*.

La fermentation du jus de raisin, qui aboutit à la fabrication du vin, est le fait des *Saccharomyces api-*

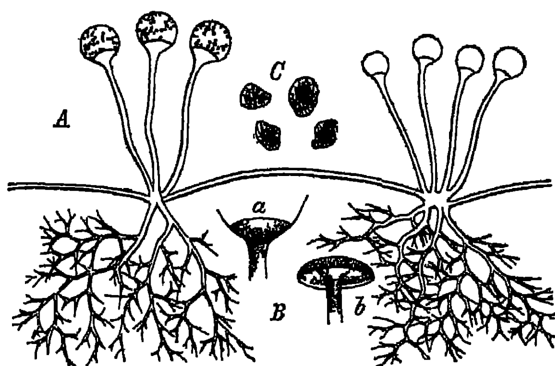


Fig. 49. — *Mucor stolonifer.*

culatus, pastorianus, ellipticus, etc., qui se trouvent sur les raisins eux-mêmes et sur le bois des grappes. Si on ajoute à du moût stérilisé l'eau de lavage des grains de raisin, on observe une fermentation ; avec le jus interne de raisins prélevé aseptiquement on n'obtient au contraire aucune fermentation. Les grappes et les raisins de Vignes cultivées en serre ne présentent ordinairement pas de Levures, de même que des grappes protégées par une enveloppe d'ouate,

il s'agit donc d'un ensemencement des raisins par l'air.

Il n'y a pas que les Levures qui soient susceptibles de provoquer la fermentation alcoolique, beaucoup de Moisissures mises en présence d'un liquide sucré respirent d'une manière normale en présence de l'air, mais dédoublent le sucre en gaz carbonique et alcool si l'oxygène vient à manquer, la quantité d'alcool est très variable avec les différents organismes, très faible avec le *Penicillium glaucum*, un peu plus considérable avec différents *Aspergillus* (le Koji japonais est fabriqué par l'*Aspergillus Oryzæ* associé à une Levure), elle devient assez grande avec certaines Mucorinées, en particulier avec *Mucor racemosus* (fig. 48) et *M. spinosus*. Le *Mucor racemosus* présente en vie anaérobie un cloisonnement de son mycélium et les cellules prennent une forme

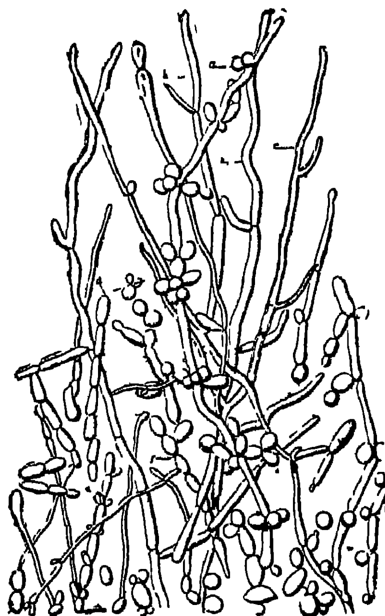


Fig. 50. — *Monilia candida*.

arrondie et bourgeonnante analogue à celle que possèdent les *Levures* Citons encore, parmi les microorganismes capables de déterminer la fermentation alcoolique du sucre, le *Mucor circinelloides*, le *M Oryzæ*, le *M Stolonifer* (fig 49), le *Rhizopus Oryzæ* et le *R oligosporus*, l'*Oidium lactis*, le *Monilia candida* (fig 50) et un certain nombre de bactéries

Il existe donc toute une série de végétaux capables de produire des quantités plus ou moins importantes d'alcool en l'absence d'oxygène et cependant de respirer suivant le mode normal, lorsqu'ils sont en présence d'air, l'alcool et le gaz carbonique formés proviennent tout d'abord de sucre extérieur au végétal-ferment, puis du glycogène élaboré par les cellules (autofermentation), ce dernier phénomène est loin d'être spécial aux plantes qui provoquent la fermentation alcoolique, il est au contraire d'une très grande généralité et s'applique aussi bien aux végétaux supérieurs qu'aux Thallophytes

CHAPITRE X

RESPIRATION INTRAMOLÉCULAIRE

1 Mise en évidence

Revenons en effet aux végétaux supérieurs et cherchons à voir ce qui se passe lorsqu'ils viennent à être privés de l'oxygène nécessaire à leurs échanges respiratoires, adressons-nous tout d'abord à des organes riches en matières sucrées (tubercules de Betterave, de Carotte ou fruits tels que des Pommes, des Poires, des Cerises), répétons sur ces organes l'expérience réalisée pour la première fois par LECHARTIER et BELLAMY Lorsqu'on enferme de tels organes dans un vase plein d'air, hermétiquement fermé et muni d'un manomètre, on constate tout d'abord que la pression interne diminue par suite de l'absorption de l'oxygène et de son remplacement par du gaz carbonique plus facilement soluble, puis la pression, après avoir passé par un minimum, croît d'une manière continue et cela souvent pendant plusieurs semaines, pouvant atteindre finalement la valeur de plusieurs atmosphères

Il est facile de constater que dans cette expérience l'accroissement de pression est due au dégagement de

gaz carbonique, on observe d'autre part que tout l'oxygène de l'atmosphère primitive a disparu, que la teneur en sucres des organes s'est abaissée, et enfin il est possible de déceler dans les tissus la présence d'alcool éthylique Il s'est donc produit une véritable fermentation alcoolique aux dépens des sucres contenus dans les cellules, le phénomène a été successivement désigné sous le nom de résistance à l'asphyxie, de fermentation propre et de respiration intramoléculaire, ce dernier terme correspond à la préoccupation qu'on a eue de retrouver un phénomène d'oxydation dans les réactions chimiques qui font place ici à la respiration normale, on admettait qu'en l'absence d'oxygène libre, on se trouve en présence d'une oxydation interne s'opérant par une transposition d'atomes

On obtient des résultats identiques avec des graines en voie de germination ou avec des feuilles et par suite on voit l'intérêt qui existe à ce que, dans les expériences de mesure du phénomène respiratoire, on ne se trouve jamais dans des conditions telles que l'oxygène arrive à faire défaut, il se produirait alors un dégagement de gaz carbonique, auquel ne correspondrait aucune absorption d'oxygène et le quotient respiratoire se trouverait de ce fait absolument faussé Il est donc nécessaire que la densité de charge ne soit pas trop considérable et que les organes ne soient pas trop pressés les uns contre les autres, condition qui pourrait réaliser en certaines régions leur respiration intramoléculaire,

Les premières expériences de Lechartier et Bellamy prêtent d'ailleurs à certaines objections, lors-

qu'on les réalise avec des Champignons à chapeau, on constate qu'en même temps qu'il se dégage du gaz carbonique il se produit de l'hydrogène, on a pu depuis démontrer que la formation de ce dernier gaz est due à l'intervention des bactéries, on peut se demander alors s'il n'en est pas de même pour le gaz carbonique, on constate du reste qu'à la fin de l'expérience, les organes sont profondément altérés, les pommes, par exemple, ressemblent alors à des sacs remplis de sirop et tous les tissus en sont détruits, n'est-ce pas le fait de microorganismes dont certains pourraient déterminer une fermentation alcoolique ?

On peut reprendre ces expériences en se mettant à l'abri de toute cause d'erreur, il suffit d'opérer par exemple sur des fragments de Betterave, de Potiron découpés aseptiquement (MATRUCHOT et MOLLIARD), les résultats sont les mêmes en ce qui concerne le phénomène de la respiration intramoléculaire, mais les organes sur lesquels on expérimente ne sont plus profondément altérés et gardent leur structure histologique

J'ai pu de même mettre en évidence la résistance à l'asphyxie sur des plantes entières (Radis) cultivées aseptiquement, si on vient à placer à l'obscurité de telles plantes bien développées à la lumière, après avoir fermé hermétiquement le flacon de culture qui se trouve muni d'un manomètre, on constate, après que tout l'oxygène de l'atmosphère a disparu, un dégagement important de gaz carbonique, puis la plante meurt sans changer d'aspect d'une manière notable et peut se conserver ainsi pendant de nombreuses années.

2 Mesure et intensité du phénomène

Les dispositifs que nous venons d'envisager peuvent être utilisés pour évaluer l'intensité du phénomène de la respiration intramoléculaire, mais à cet effet, on a imaginé une série d'appareils permettant de mesurer le dégagement de gaz carbonique en atmosphère renouvelée On se sert alors pour balayer ce gaz, soit de l'hydrogène pur, ou de l'azote, ou bien encore on opère dans le vide

Lorsqu'on s'adresse à l'hydrogène, il est nécessaire d'employer un gaz bien pur, exempt en particulier d'hydrogène arsénié, lorsqu'on utilise, pour préparer l hydrogène, le zinc et l'acide sulfurique ordinaires, on fait tout d'abord passer le gaz dans des tubes en U contenant du nitrate de plomb qui retient l'hydrogène sulfuré, du sulfate d'argent retenant l'hydrogène arsénié et l'hydrogène phosphoré

Bardeleben a proposé, pour simplifier le dispositif, de préparer l'hydrogène avec du zinc électrolytique et de l'acide sulfurique purs, mais il est alors nécessaire d'ajouter un peu de chlorure de platine qui détermine l'action de l'acide sulfurique sur le zinc, les deux corps purs ne réagissant pas l'un sur l'autre L'hydrogène ainsi produit se dégage dans une solution de potasse et d'acide pyrogallique qui absorbe les traces d'oxygène et de gaz carbonique qu'il peut contenir (fig 51), le gaz ainsi préparé est dirigé dans l'enceinte où se trouve placé l'organe végétal sur lequel portent les recherches et passe ensuite dans un appareil absorbant le gaz carbonique produit

Quand on veut se servir de l'azote comme de gaz

inerte, on prépare ce gaz en chauffant un mélange de nitrite de potassium pur (85 gr.) et de chlorure d'ammonium (53 gr. 5) dissous dans de l'eau (180 cm³), on le fait passer sur de la ponce sulfurique qui absorbe les traces d'ammoniaque formées et sur de la chaux sodée qui retient le chlore, on le fait enfin barboter dans de l'acide sulfurique concentré qui dessèche le gaz et renseigne sur la vitesse de dégagement.

On a quelquefois aussi employé le gaz carbonique

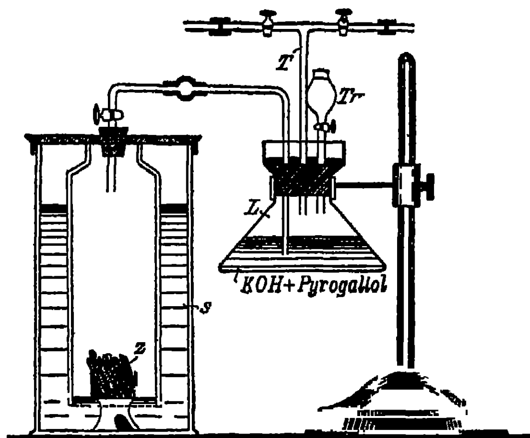


Fig. 51. — Appareil de Bardeleben destiné à préparer de l'hydrogène pur en vue d'expériences de respiration intramoléculaire.

comme gaz inerte, lorsqu'on a recherché s'il ne se dégageait pas, lors de la respiration intramoléculaire, un autre gaz que le gaz carbonique, il suffit d'employer l'appareil de Bardeleben dans lequel on fait agir de l'acide chlorhydrique sur du marbre.

Enfin au lieu d'un gaz inerte on peut employer le vide pour mettre en évidence et mesurer la résistance à l'asphyxie, c'est ce qu'a réalisé NABOKICH à l'aide d'un appareil qui permet d'absorber le gaz carbonique produit par les végétaux autour desquels on a fait le vide à l'aide d'une trompe à mercure.

Le volume I du gaz carbonique dégagé par unité de temps et unité de poids dans la respiration intramoléculaire est ordinairement plus faible que le volume N du même gaz produit dans les mêmes conditions par la respiration normale s'effectuant en présence d'oxygène, les nombres suivants donnent une idée des variations du rapport $\frac{I}{N}$ (PALLADINE).

Fève	1,20	*Lactarius piperatus*	0,31
Jeunes rameaux de Frêne	0,82	Moutarde	0,17
Blé	0,49	Jeunes rameaux d'*Abies excelsa*	0,08
Courge	0,35		

Ces nombres sont d'ailleurs très variables avec l'état de développement des plantes, c'est-à-dire avec la composition chimique de tissus, c'est ordinairement quand les organes sont très riches en sucres que le rapport $\frac{I}{N}$ présente les plus grandes valeurs. PALLADINE a montré l'influence des sucres à cet égard en comparant ce qui se passe pour des feuilles de Fève étiolées, dépourvues de matières sucrées, mises en présence d'eau pure ou d'une solution de sucre, dans le premier cas, elles meurent bientôt (au bout de deux jours) en l'absence d'oxygène, après n'avoir dégagé que de faibles quantités de gaz carbonique, en présence de sucre, elles dégagent au contraire un volume

relativement considérable de gaz carbonique et restent vivantes beaucoup plus longtemps, elles peuvent verdir dans ces conditions lorsqu'elles sont exposées à la lumière

PALLADINE et KOSTYTSCHEW ont par exemple obtenu les quantités suivantes de gaz carbonique pour un même nombre de feuilles de Fève

Pas de sucre	Poids de CO^2 dégagé en 30 hs	$P = 256$ mg 8
	Poids d'alcool produit	$P' = 68$ » 3
Sucre	Poids de CO^2 dégagé en 25 hs	$P_1 = 782$ » 4
	Poids d'alcool produit . .	$P'_1 = 724$ » 6

Le rapport P' P est égal à 0,265, il prend la valeur P'_1 $P_1 = 0,926$ dans le second cas, le phénomène est d'autant plus voisin de la fermentation alcoolique qu'il y a plus de sucre

On observe les mêmes phénomènes avec des graines de Lupin, qui sont naturellement pauvres en sucres, leur respiration intramoléculaire se trouve considérablement augmentée, quand on fournit à ces graines des sucres tels que le glucose, nous nous trouvons dans de telles expériences en présence de cellules qui se comportent tout à fait comme celle des Levures, puisqu'elles déterminent la fermentation alcoolique de sucres extérieurs

En cultivant aseptiquement des embryons de *Pinus Pinea* sur une solution de saccharose LUBIMENKO a montré que le quotient respiratoire devient très élevé (2 environ), le liquide contient de l'alcool à la fin de l'expérience et la plante s'est comportée dans ces conditions comme une Levure, en produisant une véritable fermentation alcoolique à l'air libre

Si le phénomène de la respiration intramoléculaire

ne dure pas trop longtemps, les organes qui l'ont présenté peuvent reprendre leur respiration normale quand on les remet en présence d'oxygène, mais si la phase de résistance à l'asphyxie a duré davantage, le retour en question n'est plus possible, alors même que l'organe est encore capable de dégager du gaz carbonique en l'absence d'oxygène

Les différents facteurs extérieurs qui agissent sur la respiration normale interviennent également pour

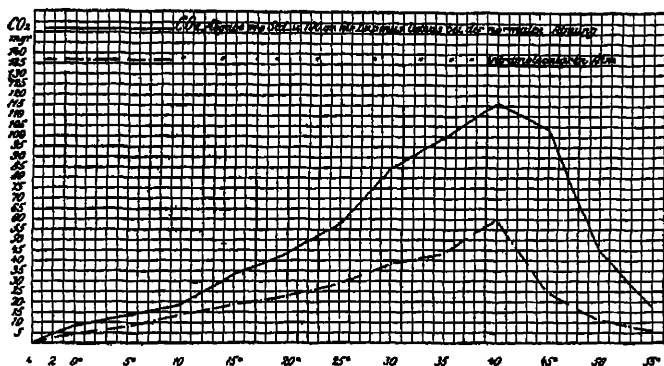


Fig 52 — Courbes relatives à l'intensité de la respiration normale (trait continu) et la respiration intramoléculaire (trait discontinu) en fonction de la température (Amm)

modifier l'intensité de la respiration intramoléculaire, c'est en particulier le cas de la température, le graphique représenté par la figure 52 (Amm) montre à la fois l'inégalité des deux phénomènes et l'action très comparable qu'exerce la température sur chacun d'eux.

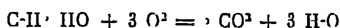
3 Signification de la respiration intramoléculaire par rapport à la respiration normale

La respiration intramoléculaire venant à remplacer la respiration normale quand l'oxygène fait défaut et se montrant influencée de la même manière par les divers facteurs, on conçoit qu'on ait été amené à se demander si la résistance à l'asphyxie ne serait pas simplement une phase de la respiration normale aérobie, il se produirait d'abord dans tous les cas une fermentation alcoolique aux dépens du sucre les choses en resteraient là en l'absence d'oxygène, si au contraire il existe de l'oxygène libre, celui-ci brûle l'alcool formé, on aurait ainsi successivement



$$C^6H^{12}O^6 = 2\ CO^2 + 2\ C^2H^5\ OH$$

et



$$C^2H^5\ HO + 3\ O^2 = 2\ CO^2 + 3\ H^2O$$

Il se produirait ainsi dans le phénomène de la respiration normale quelque chose de comparable à ce qui se passe dans la fermentation acétique où l'alcool est brûlé en trois temps auxquels correspond la formation d'aldéhyde, celle d'acide acétique, celle enfin de gaz carbonique et d'eau On aurait ainsi pour toutes les cellules un phénomène constant, celui de la respiration intramoléculaire, suivi, en présence d'oxygène, de la combustion de l'alcool

Les faits qui plaident en faveur de cette façon de concevoir les choses sont les suivants On a dans certains cas observé la formation d alcool, dans les condi-

tions normales, à l'intérieur d'organes massifs, par exemple des troncs d'arbres, on a supposé que dans ce cas l'oxygène arrive à faire défaut, mais il n'est pas certain qu'il ne s'agisse pas d'une action bactérienne. On a pu d'autre part constater l'existence d'alcoolase dans les tubercules de Betterave, de Pomme de terre, alors qu'ils sont aérés d'une manière normale (STOKLASA).

Mais il y a lieu de remarquer que, si dans le phénomène de la respiration intramoléculaire, le dégagement de gaz carbonique est très généralement accompagné de la formation d'alcool, il y a lieu cependant de signaler des cas où on n'a pu mettre en évidence la production de cette dernière substance ; c'est ce qui a lieu en particulier pour les chapeaux de Basidiomycètes (KOSTYTSCHEW).

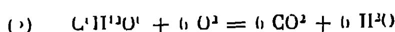
Enfin la manière précédente de relier la respiration intramoléculaire à la respiration normale ne cadre pas avec le rôle indéniable que jouent les acides organiques dans le métabolisme respiratoire. Aussi certains physiologistes n'admettent pas que l'alcool soit un produit intermédiaire des phénomènes respiratoires ; on peut concevoir avec KOSTYTSCHEW que dans les deux cas le sucre est transformé en la série des substances qui apparaissent au début du métabolisme de la fermentation alcoolique, mais que celles-ci conduisent à la production d'alcool et de gaz carbonique lorsqu'il s'agit de la fermentation alcoolique, à celle de gaz carbonique et d'eau quand on est en présence du phénomène respiratoire ; il ne s'agirait pas en d'autres termes d'une unique série linéaire de réactions, mais de deux séries divergentes.

Quelle que soit d'ailleurs la signification de la fermentation alcoolique par rapport à la respiration proprement dite, il est du moins un lien physiologique évident entre les deux phénomènes, c'est la propriété de constituer une source d'énergie pour la plante.

Les deux réactions



$$(1) \quad C^6H^{12}O^6 = 2\,CO^2 + 2\,C^2H^5OH$$



$$(2) \quad C^6H^{12}O^6 + 6\,O^2 = 6\,CO^2 + 6\,H^2O$$

ont une grande généralité dans tout le règne végétal ; la première est réalisée par les Levûres, même en présence d'une assez grande quantité d'oxygène, et apparaît comme le phénomène caractéristique de ces végétaux ; chez les plantes supérieures, cette réaction est au contraire exceptionnelle et ne se produit qu'en l'absence totale d'oxygène ; de plus elle se produit pour elles normalement aux dépens de substances endocellulaires et non pas extérieures ; nous avons vu cependant qu'en ce qui concerne les graines, on peut leur faire produire la fermentation alcoolique à partir de sucre extérieur ; la distinction de lieu n'est donc pas absolument tranchée, d'autant qu'inversement la Levûre est susceptible de produire de l'alcool et du gaz carbonique à partir de ses propres réserves (autophagie).

La seconde réaction, qui est normale pour les végétaux supérieurs, se retrouve d'ailleurs chez les Levûres lorsque celles-ci sont en présence d'oxygène abondant ; il n'y a donc pas non plus de distinction radicale à établir à ce point de vue entre les deux sortes de végétaux.

4 Maturation des fruits charnus

Nous nous sommes attachés dans tout ce qui précède à envisager d'une manière isolée les différentes fonctions correspondant à la désassimilation des substances ternaires, il est bien clair d'autre part qu'elles peuvent se rencontrer combinées dans un même organe végétal, nous trouvons un exemple de cette intrication dans les faits qu'on observe dans les fruits charnus lors de leur maturation Alors que ce qu'on entend par la maturation des graines correspond à une synthèse et une accumulation de matériaux de réserve, le même mot appliqué aux fruits s'applique au contraire à une série de transformations cataboliques

Nous avons déjà constaté que les fruits charnus dans lesquels se constitue de l'amidon, les pommes par exemple, digèrent cet amidon dans la période de maturation, il en résulte une formation de sucres solubles, mais on constate d'autre part que la quantité de ces sucres ne peut pas s'expliquer uniquement par la transformation du polysaccharide Nous trouvons donc dans les fruits charnus un phénomène de digestion des hydrates de carbone complexe, mais il s'y joint toute une série d'autres réactions que nous résumerons ici d'après le mémoire de GERBER, en demandant particulièrement au phénomène respiratoire des renseignements sur la nature des transformations qui se produisent à cette période dans les fruits

Les sucres préexistant ou se formant aux dépens de l'amidon sont en partie utilisés dans le phénomène respiratoire, nous avons vu que dans ce cas le quo-

tient respiratoire est voisin de l'unité, or dans la première période de la maturation des fruits charnus, le quotient respiratoire se montre très nettement supérieur à l'unité, et cette période est caractérisée au point de vue chimique par la disparition graduelle de l'acidité. Les deux ordres de faits sont liés d'une manière très nette, c'est à l'utilisation des acides organiques, qu'ils soient entièrement brûlés ou qu'ils soient transformés en sucres, qu'est due la valeur du quotient respiratoire, qu'on peut appeler *quotient respiratoire d'acides*, on observe des valeurs identiques pour ce quotient lorsqu'on cultive le *Sterigmatocystis nigra* sur un liquide contenant un mélange de sucre et d'acide organique utilisable, tel que l'acide tartrique, malique ou citrique.

Mais ces quotients d'acides n'apparaissent que dans certaines conditions de température, ce n'est que pour des températures égales ou supérieures à 30° que les fruits à acide tartrique (raisin) ou à acide citrique (orange) le présentent, pour ceux qui contiennent de l'acide malique (pomme, poire, nèfle) c'est à partir de 15° que le phénomène se produit.

En mesurant la respiration présentée par des Pommes à des températures variées, GERBER a obtenu des résultats tels que ceux que je transcris ici, se rapportant à un kilogramme de fruits et à une heure de respiration :

Dates	Température	CO^2	O^2	CO^2/O^2
3 juillet	30°	128 cm³	98 cm³	1,30
4 —	0°	6 »	7 »	0,86
9 —	30°	155 »	108 »	1,43
10 —	18°	47 »	48 »	0,99
11 —	30°	100 »	85 »	1,17

Nous voyons une fois de plus que les températures basses ralentissent beaucoup la respiration, mais surtout qu'elles abaissent la valeur du quotient respiratoire, qui ne devient supérieur à l'unité qu'à une température assez élevée Le fait que les fruits à acide tartrique ou citrique n'utilisent ces substances qu'à une température supérieure à 30° explique que ces fruits exigent pour mûrir une température plus élevée que ceux qui contiennent de l'acide malique

Nous nous trouvons ici en présence du même phénomène que celui que nous avons signalé antérieurement pour les plantes grasses pendant le jour

Beaucoup de fruits charnus contiennent avant leur maturation des tannins qui disparaissent dans la suite , ces substances sont oxydées d'une manière complète sans former de sucres et lorsque des fruits présentant du sucre et du tannin (Kaki) ne contiennent pas d'acides, ils offrent un quotient respiratoire qui est toujours inférieur à l'unité

Alors même que les acides n'existent pas dans un fruit, ou se trouvent avoir été utilisés dans une première phase de la maturation, on peut encore obtenir dans une dernière période de la transformation de ce fruit, un quotient respiratoire de valeur élevée , il s'agit d'un *quotient de fermentation* résultant d'une aération interne insuffisante , cette condition provient de la transformation de la pectose en pectine qui détermine une occlusion des méats intercellulaires , les fruits se comportent alors comme dans l'expérience de respiration intramoléculaire de LECHARTIER et BELLAMY

En dehors de l'époque différente à laquelle apparaît

le quotient de fermentation, celui-ci se distingue du quotient d'acides par la température à laquelle il peut se produire (il peut encore apparaître à 0°), ainsi que par sa valeur qui est souvent supérieure à 3, alors que le quotient d'acide reste ordinairement inférieur à 1,5, de plus la quantité d'oxygène absorbée dans la phase de fermentation est bien plus faible que lorsqu'il s'agit de la respiration normale portant sur les sucres et les acides, enfin si on pratique le sectionnement d'un fruit en voie de maturation, on augmente l'intensité respiratoire et la valeur du quotient respiratoire dans la première phase, on n'augmente au contraire que très légèrement l'intensité du phénomène et on en diminue légèrement le quotient dans la seconde phase, qui est caractérisée de plus par la formation d'alcool et de différents éthers qui donnent au fruit mûr son parfum

CHAPITRE XI

FERMENTATIONS DIVERSES

La fermentation alcoolique n'est qu'un exemple particulier de nombreuses transformations de matériaux ternaires opérées par des microorganismes, il nous reste à en envisager l'ensemble et c'est par leur étude générale que nous terminerons cet exposé de l'utilisation des substances carbonées

1 Gomme des sucreries

C'est encore dans la catégorie des ferments alcooliques que rentre une bactérie qui se rencontre fréquemment dans les mélasses qu'elle détruit en y acquérant un énorme développement, il s'agit du *Leuconostoc mesenteroides*, vulgairement connu sous le nom de gommes des sucreries C'est une bactérie dont les éléments, disposés en chapelet sont entourés d'une gaine transparente très épaisse, formée par une glucosane moins polymérisée que la cellulose

Lorsqu'on introduit cette bactérie dans une solution sucrée, elle produit une fermentation alcoolique d'une partie du sucre, mais une portion importante (environ la moitié) de celui-ci sert à la constitution de la gaine cellulaire Il ne s'agit pas là d'un phénomène nouveau, car les Levures utilisent elles aussi un peu de sucre

pour édifier leur protoplasme, mais alors que pour les Levures le rapport du sucre se comportant comme aliment plastique au sucre employé dans la production d'alcool est très faible, il est au contraire ici considérable et nous nous rendons mieux compte des deux rôles qui incombent à la matière carbonée

2 Fermentation mannitique

Certains organismes capables de produire la fermentation alcoolique peuvent d'autre part se com-

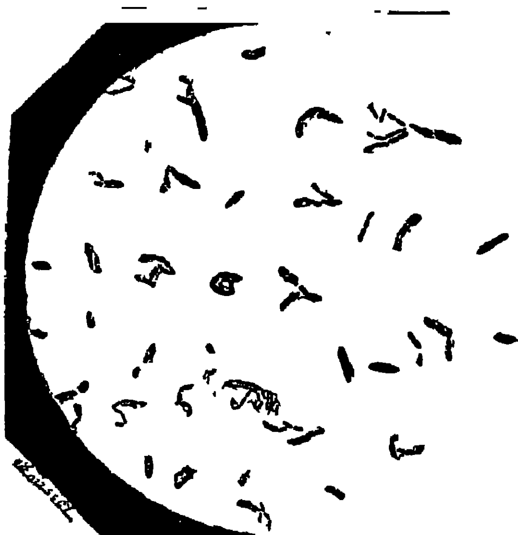


Fig 53 — Ferment mannitique

porter d'une autre manière suivant l'espèce de sucre qui est mise à leur disposition On a isolé de certains

vons une bactérie (fig. 53) qui, en présence de glucose, donne de l'alcool et du gaz carbonique dans le rapport qui caractérise la fermentation alcoolique ; il se produit en outre de l'acide lactique, de l'acide acétique, de l'acide succinique et de la glycérine ; cette bactérie se comporte donc à la fois comme un ferment alcoolique et comme un ferment lactique.

Si on vient à lui fournir du lévulose, il y a formation de 60 à 70 p. 100 de mannite, à laquelle s'ajoutent des acides acétique, lactique, succinique, un peu de glycérine et du gaz carbonique. On peut concevoir que la transformation du lévulose en mannite correspond à la réaction



$$13\ C^6H^{12}O^6 + 6\ H^2O = 12\ C^6H^{14}O^6 + 6\ CO^2$$

Mais il s'agit, comme dans le cas de la formation de la glucosane du *Leuconostoc*, d'une réaction endothermique, d'une synthèse. Ce sont les autres réactions, correspondant à la formation d'acides, qui elles sont exothermiques, qui fournissent l'énergie nécessaire à la production de mannite.

3. Fermentation lactique

On sait que le lait abandonné à lui-même devient acide ; il y a formation d'acide lactique aux dépens du lactose ; celui-ci est tout d'abord dédoublé, puis le glucose et le galactose qui en résultent ont leur molécule scindée en deux molécules d'acide lactique



$$C^6H^{12}O^6 = 2\ C^3H^6O^3$$

Il ne se produit pas de dégagement gazeux, et il

s'agit comme pour la fermentation alcoolique, d'un simple dédoublement du sucre.

Par suite de la production d'acide lactique, il se produit une coagulation du lait qui est réalisée lorsque l'acidité atteint environ 1 p. 100.

Les bactéries lactiques sont nombreuses, on en connaît plus de 100 espèces (*Bacterium lactis acidi*, *Micrococcus lactis* ...), elles existent en particulier dans la poussière des fourrages. Tantôt c'est de l'acide droit qui se forme (*Bact. lactis acidi*) tantôt c'est de l'acide gauche (*Bacillus acidificans longissimus*).

La fermentation lactique s'opère le mieux vers 30-35°, la bactérie se nourrit de caséine qui lui fournit l'azote et de lactose qui se comporte en outre comme matière fermentescible. La coagulation de la caséine arrête la fermentation et, pour permettre à celle-ci de se prolonger, on peut ou bien transformer la caséine en peptone par le suc gastrique, ou bien ajouter au liquide de la craie en poudre qui forme avec l'acide lactique du lactate de calcium peu soluble; en traitant ce dernier par l'acide sulfurique on régénère l'acide lactique.

Tous les ferments lactiques ne se comportent pas d'une manière identique en ce qui concerne leurs besoins d'oxygène; les uns, les plus nombreux, sont largement aérobies, d'autres n'exigent qu'une faible pression d'oxygène, certains sont entièrement anaérobies.

Parmi les microorganismes qui se montrent aérobies citons le *Bacterium acidi lactici* et le *Micrococcus acidi lactici* qui déterminent dans le lait une acidifica-

tion et par suite une coagulation se développant de haut en bas.

Le second groupe comprend au contraire des bactéries telles que le *Bacterium lactis acidi*, qui provoquent une coagulation se propageant de bas en haut.

Enfin le *Bacterium casei*, le *Bact. panis fermentati*, peuvent se passer entièrement d'air et se développent à des températures relativement élevées.

La fermentation lactique est réalisée par beaucoup de Bactéries pathogènes et les produits qui en résultent sont assez variés, leur proportion dépendant d'ailleurs de la substance ternaire qui est mise à leur disposition ; c'est ainsi que le bacille de la pneumonie de Friedlander donne naissance à de l'acide lactique, de l'alcool éthylique, de l'acide acétique et de l'acide succinique ; GRIMBERT a constaté que, suivant le sucre fourni, 100 grammes de ce sucre donnent naissance aux quantités suivantes des divers produits.

	Ac. lactiq.	Alcool	Ac. acétiq.	Ac. succin.
	—	—	—	—
Glucose	58,49	traces	11,06	—
Saccharose	43,50	»	36,13	—
Mannite	36,61	11,40	10,6	—
Glycérine	27,32	10	11,82	—
Lactose	traces	16,66	30,66	16,70

On peut encore observer avec certaines bactéries la formation d'acétone, d'acide formique et d'hydrogène.

Les recherches de BUCHNER ont permis de rapporter la fermentation lactique à l'action d'une diastase, comme pour la fermentation alcoolique et la fermentation acétique, en employant à l'égard du *Bacillus acidificans longissimus* le procédé que nous avons signalé à propos de la fermentation acétique, on peut

extraire un liquide qui réalise *in vitro* la transformation du glucose en acide lactique

Les conditions dans lesquelles le lait se coagule indiquent trois sortes de procédés pour éviter cet accident On peut additionner le liquide d'un peu de bicarbonate de sodium, qui ne fait d'ailleurs que retarder le phénomène, ou bien on s'adresse à des antiseptiques tels que l'acide salicylique, ou enfin on porte le lait à une température de 60-70° qui détruit les ferments lactiques (pasteurisation)

Certaines boissons acidulées, obtenues à partir du lait, correspondent à une double fermentation, à la fois alcoolique et lactique, réalisée par l'association d'une Levure et d'une Bactérie lactique, c'est le koumiss de Sibérie provenant du lait de jument, c'est le kéfir fabriqué au Caucase avec du lait de vache

La plupart des ferments que nous avons précédemment envisagés sont capables de vivre en présence d'oxygène et, alors même que certaines des transformations qu'ils provoquent s'opèrent quand l'oxygène vient à diminuer beaucoup, la présence d'une petite quantité de ce gaz est nécessaire, comme nous l'avons montré dans la fermentation alcoolique Il est au contraire toute une série de microorganismes qui non seulement opèrent les transformations chimiques qui les caractérisent à l'abri de l'air, mais peuvent être tués par l'oxygène libre, là encore il y a des degrés et l'action nocive de l'oxygène est plus ou moins rapide suivant les espèces Nous avons affaire alors à des ferments strictement anaérobies et le type en est fourni par ceux qui provoquent les fermentations butylique et butyrique.

4 Fermentations butylique et butyrique

Nous avons dit que dans la fermentation alcoolique, il se produit, en dehors de l'alcool éthylique, de petites quantités d'autres alcools (propylique, butylique, amylique), plusieurs espèces de bactéries effectuent des fermentations analogues, mais dans lesquelles certains produits autres que l'alcool éthylique apparaissent en plus grande proportion et qui peuvent porter sur des substances sucrées complexes

C'est ainsi que le *Bacillus butylicus* produit surtout des alcools propylique et butylique aux dépens de l'amidon qui est tout d'abord transformé en maltose, il apparaît en même temps un dégagement de gaz carbonique et d'hydrogène en proportions variables Il s'agit ici d'un organisme voisin de ceux qui déterminent la fermentation butyrique

La fermentation butyrique est produite par diverses bactéries dont les plus connues sont le *Bacillus amylobacter* et le *Clostridium pastorianum* (fig 54) qui existent communément dans le sol, on peut se procurer facilement le premier en abandonnant des tranches de pomme de terre non épluchées dans de l'eau à 40°, au bout d'un jour ou deux le liquide présente une mousse à la surface, il s'en dégage une odeur désagréable d'acide butyrique et on constate que les tissus sont désagrégés Pour isoler le *B amylobacter*, il suffit d'effectuer des semis de ce liquide en profondeur dans un milieu gélosé, en opérant à l'abri de l'air, par exemple dans une atmosphère de gaz carbonique ou d'hydrogène

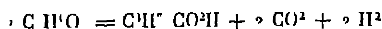
Ces organismes agissent sur différents sucres

simples, sur l'amidon et sur la cellulose, on a par exemple à partir du glucose la réaction



$$C^6H^{12}O^6 = C^3H^7 CO^2H + 2 CO^2 + 2 H^2$$
acide butyrique

Si on fournit aux bactéries un mélange de glucose, de cellulose et d'amidon, elles agissent successivement sur les trois substances dans l'ordre où nous venons de les nommer, les bactéries butyriques attaquent d'ailleurs un assez grand nombre de substances telles que la glycérine, l'acide lactique, les substances protéiques, on a avec l'acide lactique la même réaction qu'avec le glucose



$$2 C^3H^6O^3 = C^3H^7 CO^2H + 2 CO^2 + 2 H^2$$

En dehors des substances les plus caractéristiques qui apparaissent dans cette fermentation on a pu mettre en évidence la production de composés assez nombreux alcool butylique, acide formique, acide acétique, acide propionique, méthane



Fig. 54. — *Clostridium butyricum*

De telles bactéries jouent un rôle biologique très important, ce sont ces êtres qui agissent sur les débris végétaux, les feuilles mortes par exemple, pour détruire toutes les substances sucrées et réduire les organes aux membranes lignifiées et cutinisées, qui

seules résistent à leur action. La figure 55 représente une feuille de peuplier réduite ainsi à peu près exclusivement à ses nervures.

Les agents des fermentations butylique et butyrique

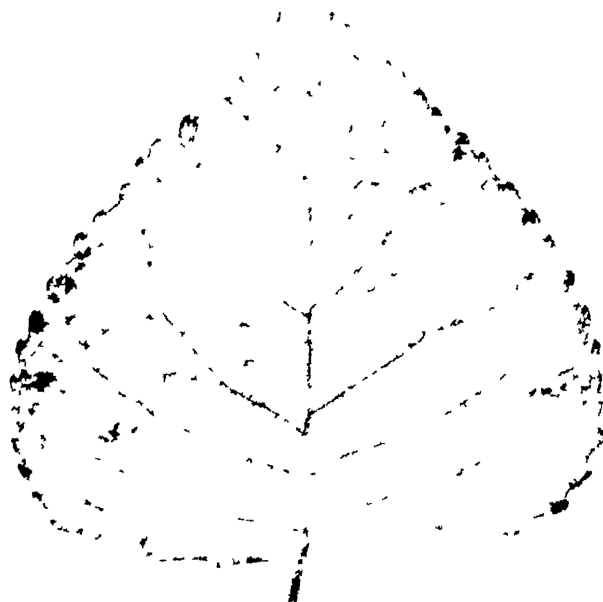


Fig. 55. — Feuille de peuplier réduite en grande partie à ses nervures sous l'action de ferments butyriques.

appartiennent au groupe des microorganismes qui ne peuvent se développer qu'en l'absence d'oxygène et

qu'on qualifie d'anaérobies, certains d'entre eux sont altérés par une courte exposition à l'air, puis tués au bout d'un temps un peu plus long, ils peuvent par contre supporter une faible pression d'oxygène libre, certains autres au contraire sont encore plus sensibles à l'action de l'oxygène libre qui leur est nocif même à une pression très réduite

Mais il y a lieu d'observer que, si les êtres anaérobies ne peuvent utiliser l'oxygène libre, ils empruntent ce corps à certaines combinaisons, opérant par conséquent des réductions En leur présence l'oxyhémoglobine est ramenée à l'état d'hémoglobine réduite, de même le carmin d'indigo et le bleu de méthylène sont transformés par perte d'oxygène en substances incolores, reprenant leur teinte sous l'action ultérieure de l'air atmosphérique, ces phénomènes forment une transition aux fermentations réductrices dont nous signalerons dans un instant l'existence et rappellent ceux qui sont présentés par les Levûres (réductases)

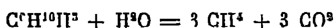
C'est l'action de ferments analogues, agissant sur les composés pectiques, qu'on utilise dans l'opération du rouissage (Chanvre, Lin), elle consiste à abandonner les tiges de ces plantes textiles dans de l'eau stagnante Les bactéries qui interviennent ici transforment en partie les composés pectiques qui constituent les lamelles moyennes des membranes cellulaires en acide butyrique, gaz carbonique et hydrogène et gélatinisent le reste de ces composés, la pectine donne naissance à de l'acide pectique qui, en présence de sels calcaires, se coagule et forme à la surface des fibres une pellicule vernissée

Van Tieghem a rapporté le rouissage à l'action du *Bacillus amylobacter* qui agit non seulement sur les composés pectiques, mais aussi sur les membranes cellulaires constituées par de la cellulose relativement peu résistante, depuis on a pu isoler de nombreux organismes intervenant dans cette opération, *Granulobacter pectinivorum*, *Plectridium pectinivorum*, *Bacillus macerans* qui sont anaérobies et même certaines espèces aérobies telles que le *Bacillus subtilis*

Omeliansky a étudié un bacille du même groupe qui est capable de transformer la cellulose à l'abri de l'air, du papier filtre se trouve dissous par son action au bout de quelques mois et transformé en acide butyrique et acide acétique d'une part, en gaz carbonique et hydrogène d'autre part

5 Autres fermentations réductrices

Sous l'action de certains organismes encore mal connus, les débris végétaux accumulés au fond de l'eau ou dans le fumier donnent naissance, par transformation de la cellulose, à du gaz carbonique et du méthane (**fermentation forménique**)

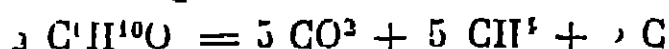


$$C^6H^{10}O^5 + H^2O = 3\ CH^4 + 3\ CO^2$$

Le formène se produit en particulier dans les parties profondes du fumier, il se dégage aussi de l'hydrogène dans ces conditions

On peut réaliser de telles transformations en ensemençant avec quelques gouttes de purin un liquide contenant des sels minéraux appropriés et de la filasse de Lin.

Il y a lieu de faire observer que dans certains cas on assiste dans de telles expériences à la formation de charbon suivant l'équation



$$2\,C^6H^{10}O^5 = 5\,CO^2 + 5\,CH^4 + 2\,C$$

On se trouve alors en présence d'un mode de décomposition de la cellulose rappelant celui qui se produit dans la formation du terreau ou de la tourbe et qui a été réalisé dans celle de la houille ; celle-ci contient d'ailleurs des bactéries fossiles qui sont très comparables morphologiquement à celles qu'on a pu isoler dans les fermentations cellulosiques.

La cellulose peut d'ailleurs être détruite en présence ou en l'absence d'oxygène libre ; dans le premier cas, il s'agit surtout de Moisissures (*Mucor*, *Dematium*, *Cladosporium*, *Botrytis*, *Penicillium*), dans le second ce sont au contraire des Bactéries qui interviennent et OMELIANSKI a pu rapporter à deux sortes d'organismes les réactions qui se traduisent par un dégagement d'hydrogène et celles qui aboutissent à la production de méthane.

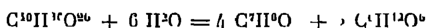
La **fermentation sulfhydrique** consiste en la réduction du sulfate de calcium et des matières albuminoïdes dans les eaux stagnantes et se traduit par la formation d'hydrogène sulfuré ; on a pu l'utiliser pour la vulcanisation du caoutchouc ; elle prépare l'action des *Beggiatoa* dans les eaux douces ou salées. Le *Microspora desulfuricans* peut donner en culture jusqu'à près de 1 gramme d'acide sulfhydrique par litre.

La **dénitrification** correspond de même à une réduction des azotates en nitrites ou en azote libre ; elle sera étudiée à propos du cycle de l'azote.

6. Fermentation gallique

Signalons enfin l'existence d'une catégorie de transformations que subissent des matières organiques ternaires, qu'on appelle encore des fermentations, mais qu'on peut assimiler avec plus de raison à des phénomènes de digestion, c'est le cas de la fermentation gallique

Si on cultive en surface de l'*Aspergillus glaucus* sur une décoction de noix de galles, le tannin disparaît peu à peu, servant à la fois d'aliment plastique et énergétique, lorsque le mycélium est immergé, on constate la transformation du tannin en acide gallique et glucose



$$C^{40}H^{36}O^{26} + 6\ H^2O = 4\ C^7H^6O^5 + 2\ C^6H^{12}O^6$$

On utilise cette propriété de l'*A glaucus* pour l'obtention de l'acide gallique, on lui associe des Levûres qui font disparaître le glucose par fermentation alcoolique Il s'agit ici d'un phénomène de digestion absolument de même ordre que l'inversion du saccharose et il s'opère par l'intervention d'une diastase, la tannase, il est d'ailleurs suivi, si le développement du mycélium se prolonge, de l'utilisation du glucose puis de l'acide gallique

On voit par ce dernier exemple, qui n'est qu'un cas extrême de ce qui se passe dans les fermentations proprement dites, où la même substance est souvent à la fois un aliment plastique et une source d'énergie, comment les phénomènes de fermentation participent, d'une part, de la respiration normale qui est un processus de désassimilation, d'autre part, des processus synthétiques d'assimilation.

Tous les phénomènes que nous venons de ranger sous la rubrique des fermentations sont en somme caractérisés par la production à l'intérieur d'un milieu nutritif d'une certaine substance qui est nettement prédominante, mais il existe à cet égard tous les degrés en ce qui concerne la manière dont se trouvent transformées les substances ternaires utilisées par les microorganismes, chacun de ceux-ci amène dans le milieu de culture la formation de substances variées et il se peut qu'aucune de celles-ci n'arrive à être en quantité très importante Pour se faire une idée de ces transformations métaboliques, il faudrait envisager un grand nombre de types spécifiques d'organismes, ce qui ne nous apprendrait d'ailleurs rien de nouveau au point de vue général

Qu'il nous suffise de dire qu'on a pu utiliser certains corps se formant à partir d'une substance ternaire pour reconnaître si celle-ci est alimentaire ou non pour un microorganisme déterminé, lorsqu'un sucre par exemple se comporte comme alimentaire, il se produit à partir de lui des substances acides, si on vient à ensemencer une bactérie donnée sur un milieu gélosé et tournesolé, additionné d'un certain sucre, l'indicateur vire du bleu au rouge si le sucre en question est utilisé (Vourloud)

On constate en effet que les différentes bactéries font apparaître dans les milieux de culture, où la seule source de carbone est constituée par un sucre, différents acides organiques, c'est ainsi que le Bacille pyocyanique amène, à partir du glucose, la production d'alcool éthylique, d'acides formique et acétique, à

partir du lévulose il se forme de l'acide lactique (ALBEL)

Nous nous trouvons ici en présence du même problème de métabolisme intermédiaire que celui qui s'est posé à nous à propos de la fermentation alcoolique, nous retrouvons l'acide lactique que nous sommes amenés à considérer comme un produit intermédiaire de la désagrégation des hexoses, car le Bacille pyocyanique est capable de l'utiliser comme source de carbone Les travaux parus sur cette question importante sont déjà nombreux, mais il faut avouer que le problème est plutôt posé que résolu et nous nous contenterons d'attirer ici l'attention du lecteur sur ces recherches

Nous arrivons au terme du programme que nous nous sommes assigné, ayant envisagé précédemment l'origine des substances ternaires chez les végétaux, nous avons reconnu qu'elle se trouvait dans la fonction chlorophyllienne qui consiste en la production de matières organiques à partir du gaz carbonique de l'air et de l'eau du sol Ces substances ternaires, qui peuvent passer à l'état de réserves, sont utilisées par la plante qui les a fabriquées ou par d'autres êtres à la suite d'un phénomène de simplification (digestion) et elles servent soit à l'édification de cellules nouvelles, soit à produire de l'énergie, dans ce dernier cas, elles sont le plus souvent oxydées (respiration) et aboutissent à la formation d'eau et de gaz carbonique, le cycle du carbone se trouve formé suivant le schéma qui suit.

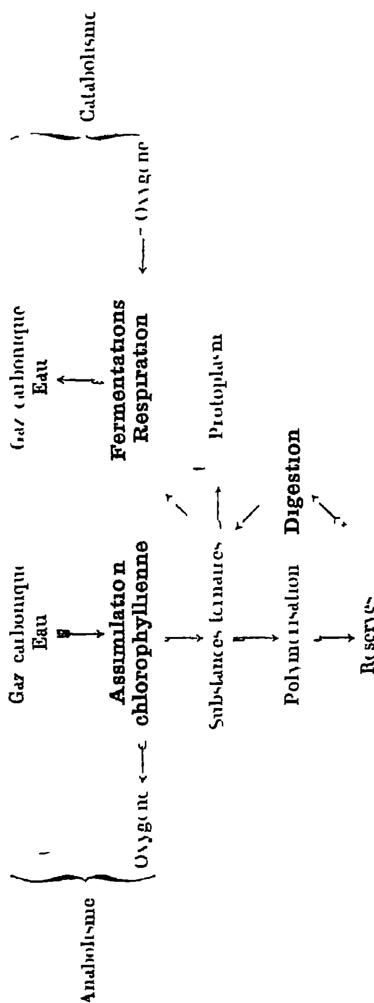


Schéma représentant le cycle du carbone chez les végétaux

Il nous a été commode pour l'exposition d'envisager successivement, dans l'histoire des composés ternaires se trouvant dans le corps des végétaux, la manière dont ils se constituent et la façon dont ils sont au contraire détruits, mais il ne faut pas oublier que ces deux processus synthétique et analytique sont réalisés d'une manière concomitante et se trouvent étroitement intriqués ; à chaque instant, toute cellule présente les deux sortes de réactions, les secondes permettant la réalisation des premières. Et il faut bien avouer que si nous avons pu nous faire une idée satisfaisante du cycle général du carbone chez les végétaux, nous sommes encore bien insuffisamment renseignés sur la manière exacte dont les deux sortes de réactions que nous venons de distinguer sont liées l'une à l'autre.

Nous n'avons, d'autre part, considéré jusqu'ici que l'histoire des substances organiques dépourvues d'azote ; dans le volume suivant, nous nous occuperons des matières azotées et nous considérerons, d'une manière analogue à ce que nous venons de faire pour le carbone, le cycle de l'azote chez les végétaux ; ce sera pour nous une occasion de constater que les deux sortes de substances ont entre elles de nombreuses relations, comme nous l'ont déjà fait prévoir l'examen de différents phénomènes.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

AMAR (M.). Sur le rôle de l'oxalate de calcium dans la nutrition des végétaux. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 1904, t. XIX.

AMBARD (L.), DUBOIS (E.) et BRICKA (M.). Similitude de l'hydrolyse du sucre par les acides et de l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase. *Bull. Soc. Ch. biolog.*, t. II, 1920, p. 4..

ANDRÉ (G.). 1. — Remarques sur les transformations de la matière organique pendant la germination. *C. R. Ac. Sc. Paris*, t. CXXX, 1900, p. 728.

2. — *Chimie agricole*, I. *Chimie végétale*, Paris, Baillière, 1909.

ARMSTRONG (E.-F.). Enzymes. *Proc. R. Soc.*, B. t. LXXXVI, 1913, p. 561.

ARTHUS (M.). *Nature des enzymes*. Thèse Doctorat Médecine, Paris, 1896.

ASTRUC (Albert). Recherches sur l'acidité végétale. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 1903, t. XVII.

ATKINSON. Sur la diastase du Koji. *Mon. Scient.*, 1882.

AUBEL (E.). *Recherches biochimiques sur la nutrition du bacille pyocyanique*. Thèse Doct., Paris, 1921.

AUBERT (E.). *Recherches physiologiques sur les plantes grasses*. Thèse de Doctorat. Paris, 1892.

AUBERT (E.). Recherches sur l'assimilation et la respiration des plantes grasses. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 7e S., 1892, t. XVI.

BACH (A.). 1. — Ueber die Wirkung der Tyrosinase. *Ber. d. deuts. chem. Gesellesch.*, 1908, t. XLI.

2. — Recherches sur les ferments réducteurs. *Arch. Sc. phys. Genève*, t. XXXII, 1911, p. 27.

BACH (A.) et CHODAT (R.). 1. — Recherches sur les ferments oxydants. *Arch. d. Sc. phys. Genève*, t. XXXVII, 1903, p. 477.

2. — Ueber den gegenwärtigen Stand der Lehre von den pflanzlichen Oxydationsfermenten. *Bioch. Centralbl.*, 1903, p. 416 et 457.

BAYLISS (W.-M.) *The nature of Enzyme Action* Londres, 1919

BECQUEREL (P.) 1 — Sur la longévité des graines *C R Ac Sc Paris*, 1906, t CXLII, p 1549

2 — Recherches sur la vie latente des graines *Ann Sc Nat Bot*, 9ᵉ Sʳᵉ t V, 1907

BENECKE (W.) Ueber Oxalsaeurebildung in grunen Pflanzen *Bot Zeit* 1903 t LXI p 79

BERTHELOT (M.) et ANDRÉ (G.) Sur la formation d'acide carbonique et l'absorption d'oxygène par les feuilles *Ann d Ch et Phys* 7ᵉ Sʳᵉ t II

BERTRAND (G.) 1 — Sur le latex de l'arbre à laque *C R Ac Sc Paris*, 1894, t CXVIII, p 1215

2 — Sur la recherche et la présence de la laccase dans les végétaux *C R Ac Sc Paris*, 2ᵉ sem, 1895, p 166

3 — Sur les rapports qui existent entre la constitution chimique des composés organiques et leur oxydabilité sous l'influence de la laccase *C R Ac Sc Paris*, t CXXII, 1895, p 1132

4 — Sur l'intervention du manganèse dans les oxydations provoquées par la laccase *C R Ac Sc Paris*, 1897, t CXXIV, p 1032

5 — Sur l'action oxydante des sels manganeux et sur la constitution chimique des oxydases *C R Ac Sc Paris*, 1897, t, CXXIV, p 1355

6. — Présence simultanée de la laccase et de la tyrosinase dans le suc de quelques Champignons *C R Ac Sc Paris*, 2ᵉ série, 1897, p 706

7 — Les ferments solubles ou diastases *Revue Scient*, 1909, p 609

BERTRAND (G.) et MALLÈVRE Recherches sur la pectase et sur la fermentation pectique. *Bull Soc Chim Paris*, t XIII, 1895, p 77

BLACKMANN (F.) et SMITH (M.) Experimental Researches on Vegetable Assimilation and Respiration VIII A New Method for Estimating the gaseous Exchanges of Submerged Plants. *Proc roy Soc London*, B, 1911, t LXXXIII

BLACKMANN (F.) Experimental Researches on vegetable Assimilation and Respiration *Philos Trans. of the R Soc of London*, B, t CLXXXVI

BONNIER (G.) et MANGIN (L.) Recherches sur la respiration. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 6° S^ie^, 1884, t. XVII, XVIII et XIX, 7° S^ie^ 1885, t. II, 1886, t. III.

BOURQUELOT (E.) 1 — Sur un ferment soluble nouveau dédoublant le tréhalose en glucose. *C. R. Ac. Sc. Paris*, 1893.

2 — Digestion du tréhalose. *C. R. Sc. biolog.*, 1893.

3 — Sur la physiologie du gentianose et son dédoublement par les ferments solubles. *C. R. Ac. Sc. Paris*, 1898, p. 1045.

4 — De l'emploi des enzymes dans les recherches de laboratoire (Enzymes oxydants). *Atti del VI Congr. Internat. di Chim. applic.*, Rome, 1906, t. V, Sect. VIII, A-B, p. 81.

5 — La synthèse des glucosides à l'aide de l'émulsine. *Rev. Scient.*, 1913.

6 — Les principes actifs de quelques plantes employées en médecine populaire, leur recherche par la méthode biochimique. *Bull. Soc. Ch. biolog.*, t. III, 1921, p. 71.

BOURQUELOT (E.) et BERTRAND (G.) 1 — Le bleuissement et le noircissement des Champignons. *Soc. biolog. Paris*, 1895.

2 — La laccase dans les Champignons. *C. R. Ac. Sc. Paris*, 2° série, 1895, p. 788.

BOURQUELOT (E.) et BRIDEL (M.) Synthèse des glucosides d'alcools à l'aide de l'émulsine et réversibilité des actions fermentaires. *Ann. Chim. et Phys.*, t. XXVIII, 1902, p. 145.

BOURQUELOT (E.) et HÉRISSEY (H.) 1 — Sur les propriétés de l'émulsine des Champignons. *C. R. Ac. Sc. Paris*, t. CXXI, 1895, p. 693.

2 — Sur l'individualité de la séminase, ferment soluble sécrété par les graines de Légumineuses à albumen corné pendant la germination. *C. R. Ac. Paris*, 1900, t. CXXX, p. 340.

BOUTROUX (L.) *Le pain et la panification*, Paris, J.-B. Baillière.

BOUSSINGAULT (J.) *Agronomie, Chimie agricole et Physiologie*, 2° éd. 1860.

BREDIG (G.) 1 — *Anorganische Fermente*, Leipzig, 1901.

2 — Analogies entre les actions diastasiques du platine colloïdal et celles des diastases organiques. *C. R. Ac. Sc. Paris*, 1901, t. CXXXII, p. 576.

3 — Les actions diastasiques du platine colloïdal et d'autres métaux. *C. R. Ac. Sc. Paris*, 1901, t. CXXXII, p. 490.

Bridel (M.). La synthèse biochimique des hexobioses. *Bull. Soc. Chim. biolog.*, t. IV, 1922, p. 329.

Bridel (M.) et Arnold (R.). Sur l'emploi de divers agents de précipitation dans la préparation de l'émulsine des amandes. *Bull. Soc. Ch. biolog.*, 1920, t. II, p. 216.

Brown et Morris. 1. — Untersuchung über die Keimung einiger Graeser. *Zeitschr. f. d. Gesammt. Brownesen*, 1890.

2. — Einwirkung der Diastase auf Staerke. *Ber. d. d. chem. Ges.*, 1895, p. 642.

Buchner (E.). Alkoolische Gaerung ohne Hefezellen. *Ber. d. d. chem. Ges.*, t. XXX, 1897, p. 117 et p. 110.

Buchner (Ed.), Buchner (H.) et Hahn (M.). *Die Zymasegaerung*, Berlin, 1903.

Buchner (E.) u. Meisenheimer (J.). 1. — Die chemischen Vorgange bei der alkoholischen Gaehrung. *Ber. deut. chem. Ges.*, 1904, t. XXXVII, p. 417.

2. — Die chemischen Vorgange beider alkoholischen Gaerung, IV. *Ber. d. d. chem. Ges.*, t. XXXIII, 1910, p. 1773.

Bunzel (H.). The measurement of the oxidase content of plant juices. *U. S. Dept of Agric.*, 1912, Bull. n° 238.

Butkewitsch (Wl.). Zur Frage über die Umwandlung der Staerke in den Pflanzen und über den Nachweis der amylolytischen Enzyme. *Bioch. Zeitschr.*, 1908, t. X, p. 314.

Candolle (C. de). Sur la vie latente des graines. *Arch. Sc. phys. et nat. de Genève*, t. XXXIII, 1893, p. 497.

Cazeneuve. Sur le ferment soluble oxydant de la casse des vins. *C. R. Ac. Sc. Paris*, 1re série, 1897, p. 406.

Cazeneuve. Sur quelques propriétés du ferment de la casse des vins. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 1897, p. 781.

Chaudun (Mlle A.). *Recherches physicochimiques sur l'inversion diastasique du saccharose*. Thèse Doctorat, Paris, 1920.

Chodat (R.). *Darstellung von Oxydasen und Katalasen tierischen und pflanzlichen Herkunft*. Berlin, Abderhalden, 1910.

Ciamician (G.) et Ravenna (C.). Sintessi della salicina per mezzo della piante. *Rendic. d. R. Acad. d. Lincei*, (5), t. XVIII, 1909, p. 419 et 594.

Clark (W.-M.). *The determination of hydrogen ions*. Baltimore, 1920.

COLIN (H.) 1. — Hydrolyse de quelques polysaccharides par le *Botrytis cinerea*. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 9e S., 1911, p. 1.

2. — Le saccharose dans la Betterave, formation et disparition. *Rev. gén. Bot.*, t. XXVIII, 1916, p. 289 et t. XXIX, 1917, p. 21.

3. — L'inuline chez les végétaux, genèse et transformation. *Rev. gén. Bot.*, t. XXXI, 1919, p. 75.

COLIN (H.) et BELVAL (H.) Le titre acidimétrique et le pouvoir hydrolysant des sucs végétaux. *Bull. Soc. Ch. biolog.*, t. IV, 1922, p. 165.

COLIN (H.) et Mlle CHAUDUN (A.) Sur la loi d'action de la sucrase. *C. R. Ac. Sc. Paris*, t. CLXVII, 1918, p. 208.

COMBES (R.) Les échanges gazeux des feuilles pendant la destruction et la formation des pigments anthocyaniques. *Rev. gén. Bot.*, t. XXII, 1910, p. 177.

CZAPEK (F.) *Biochemie der Pflanzen*, 2e éd., 1913.

DEHÉRAIN (P.-P.) 1. — *Traité de chimie agricole*, Paris 1902, Masson.

2. — La fermentation forménique. *Ann. Agron.*, t. XI.

DETMER (W.) 1. — *Vergleichende Physiologie des Keimungsprocesses der Samen*. Jena, Fischer, 1880.

2. — *Das kleine pflanzenphysiologische Praktikum*. Jena, Fischer, 1905.

DEVAUX (H.) et BOUYGUES (H.) *Absorption d'oxygène et dégagement de gaz carbonique par le bois de Pin*. Bordeaux, 1913.

DUBRUNFAUT. *Mémoire sur la saccharification des fécules*, 2e éd., 1882, Paris.

DUCLAUX (Em.) 1. — *Chimie biologique*. Paris, 1883.

2. — Sur les transformations chimiques provoquées par la lumière solaire. *C. R. Ac. Sc. Paris*, t. CIII, 1886, p. 881.

3. — Sur les analogies entre les procès de fermentation et de combustion solaire. *Ann. Inst. Pasteur*, t. VII, 1893, p. 751.

4. — Etudes sur l'action solaire. *Ann. Inst. Pasteur*, t. X, 1896, p. 129.

5. — Sur l'action des diastases. *Ann. Inst. Pasteur*, t. X, 1898, p. 96.

6. — *Traité de Microbiologie*. Paris, 1899.

DUNLOP (F.-L.) et GILBERT (L.-O.). The synthesis of fats by the action of enzymes. *Journ. Americ. Chem. Soc.*, t. XXXIII, 1911, p. 1787.

EFFRONT (J.). 1. — Action des acides minéraux dans la saccharification par le malt. *Mon. Scientif.*, 1890.

2. — Sur la caroubinase. *C. R. Ac. Sc. Paris*, 1897, p. 116.

3. — *Les enzymes et leurs applications*, Paris, Gauthier-Villars, 1899.

ELFVING (Fr.). Ueber die Bildung organischer Saeuren durch *Aspergillus niger*. Ofversigt af Finska Vetenskaps-Soc. Forhandlingar, t. LXI, 1918-19, n° 15.

EMMERLING (O.). Die Einwirkung der Sonnenlichtes auf die Enzyme. *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, 1901, p. 3811.

FERNBACH (A.). *Recherches sur la sucrase, diastase inversive du sucre de canne.* Thèse Doct., Paris, 1890.

FIGDOR (W.). Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Keimung der Samen einiger Gesneriaceen. *Ber. d. deuts. bot. Ges.*, t. XXV, 1907, p. 582.

FISCHER (E.). Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme. *Ber. d. d. chem. Ges.*, t. XXVII, 1894, p. 2985 et t. XXVIII, 1895, p. 1429.

FISCHER (E.) et ARMSTRONG (E.-F.). Synthese einiger neuer Disaccharide. *Ber. d. d. chem. Ges.*, t. XXXV, 1902, p. 3144.

FRIEDEL (J.). L'assimilation chlorophyllienne aux pressions inférieures à la pression atmosphérique. *Rev. gén. Bot.*, 1902, t. XIV.

GAIN (E.). Sur les embryons du Blé et de l'Orge pharaoniques. *C. R., Acad. Sc. Paris*, 1900, t. CXXX, p. 1643.

GARREAU. De la respiration des plantes. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 3e Sie, 1850, t. XV et 1851, t. XVI.

GAUCHERY. Contribution à l'étude de la respiration des Bactéries. *Rev. gén. Bot.*, 1906, t. XVIII.

GAYON et DUBOURG. La fermentation mannitique. *Ann. Inst. Pasteur*, 1894, t. VIII.

GERBER. Recherches sur la maturation des fruits charnus. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 8e Sie, 1896, t. IV.

GIGLIOLI (I.). Sulla vitalità dei semi lungamente conservati, indipendentemente dalla respirazione, in condizioni che impediscono ogni assorbimento di acqua. *Atti del VI Congr. Internaz. di Chim. Appl.*, t. IV, 474.

GODLEWSKI (E.). Beitraege zur Kentniss der Pflanzenathmung. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. XIII, 1882, p. 491.

GRAFE (V.). *Ernahrungsphysiologisches Praktikum der hoeheren Pflanzen*. Berlin, 1914.

GREEN (J.-R.). 1. — On the action of light on diastase. *Philos. transact. of the Roy. Soc. of London*, ser. B, t. CLXXXVIII, 1897, p. 167.

2. — On the changes in the Endosperm of *Ricinus communis* during germination. *Ann. of Bot.*, t. IX, 1905, p. 383.

GREEN (R.) et JACKSON (H.). Further observations on the Germination of the feeds of the Castor-oil Plant. *Proc. Roy. Soc.*, B, t. LXXVII, 1905, p. 69.

GRIMBERT, *C. R. Soc. biolog.*, 1896, p. 192 et 684.

GRUSS (J.). Kapillaranalyse einiger Enzyme. *Ber. d. d. bot. Ges.*, 1908, t. XXVIa et 1909, t. XXVII.

HARDEN (A.). *La fermentation alcoolique*. Trad. Schaeffer, Paris, 1913.

HARDEN (A.) and YOUNG (W.-J.). The function of phosphates in alcoholic fermentation. *Cent. Bakter.*, II, t. XXVI, 1910, p. 178.

HEINRICHER (E.). 1. — Notwendigkeit des Lichtes und befoerndernde Wirkung derselben bei der Samenkeimung. *Beih. Bot. Cbl.*, t. XIII, 1901, p. 164.

2. — Beeinflussung der Samenkeimung durch das Licht. *Ber. d. deuts. bot. Ges.*, t. XXVI, 1908, p. 263.

HEILLNIFORL (H.). Beitrag zur Keimungsgeschichte der oelgebenden Samen. *Journ. prak. Chem.*, t. LXIX, 1911, p. 94.

HENRI (V.). *Lois générales de l'action des diastases*. Thèse Doctorat, Paris, 1903.

HÉRISSEY (H.). Recherches chimiques et physiologiques sur la digestion des mannanes et des galactanes. *Rev. gén. Bot.*, 1903, t. XV.

HILL (A. CROFT). 1. — Reversible Zymohydrolysis. *Trans. Chem. Soc.*, t. LXXIII, 1898, p. 634.

2 — The Reversibility of Enzyme or Ferment Action *Trans Chem Soc*, t LXXXIII, 1903, p 578

IWANOFF (L) Ueber die Bildung de phosphoorganischen Verbindungen und die ihre Rolle bei der Zymasegaerung *Centr Bakter*, B, t XXIV, 1909, p 1

IWANOW (S) 1 — Ueber Œlsynthese unter Vermittelung der pflanzlichen Lipase *Ber bot Ges*, t XXIX, 1911, p 595

2 — Ueber den Stoffwechsel beim Reifen oelhaltiger Samen mit besonderer Berucksichtigung der Œlbildungsprozesse *Beih bot Centralbl*, t XXVIII, 1912, p 155

3 — Ueber die Umwandlung des Œls in der Pflanze *Jahrb f wiss Bot*, t L, 1912, p 375

JOHANNSEN Ueber den Einfluss hoher Sauerstoffspannung *Untersuch Bot Inst Tubingen*, 1885, t I

IONESCO (S) Contribution à l'étude du rôle physiologique des anthocyanes *C R Ac Sc Paris*, t CLXXII, 1921, p 1311

JOST (L) *Vorlesungen uber Pflanzenphysiologie* 2e éd, Jena, 1908

JUMELLE (H) 1 — *Recherches physiologiques sur le developpement des plantes annuelles* Thèse Doctorat, Paris, 1889

2 — Recherches physiologiques sur les Lichens *Rev gén Bot*, 1892, t IV

KAYSER (Ed) *Microbiologie appliquée à la transformation des produits agricoles* Paris, J B Baillière, 1921

KINZEL (W) Ueber des Einfluss des Lichtes auf die Keimung *Ber d deuts bot Ges*, t XXV, 1907 p 269, t XXVI, 1908, p 105

KOSLOWSKI (A) Formation du pigment rouge de *Beta vulgaris* par oxydation des chromogènes *C R Ac Sc Paris*, t CLXXIII, 1921, p 855

KREUSLER Beobachtungen uber die Kohlensaeure Aufnahme und Aufgabe der Pflanzen. *Landw Jahrb*, 1887

LABORDE (J) 1 — Recherches physiologiques sur une moisissure nouvelle, *Eurotiopsis Gayoni* Thèse Doctorat, Paris, 1896

2. — Sur l'oxydase du *Botrytis cinerea* *C R Ac Sc Paris*, 1er sem, 1898, p 536

LASKOWSKI (N) Ueber einige chemische Vorgaenge bei der Keimung der Kurbissamen *Landw Versuchst*, t XVII, 1874, p 219

LEBEDEW (V ALEX) Ueber Hexosephosphorsaeureester I *Biochem Zeitschr*, t XXVIII 1910, p 213

LECHARTIER et BELLAMY 1 — Etude des gaz produits par les fruits C R Ac Sc Paris, 1869, t LXIX

2 — De la fermentation des fruits C R Ac Sc, 1875, t LXXXI, p 1129

LECLERC DU SABLON 1 — Recherches sur la germination des graines oléagineuses Rev gén Bot, t VII, 1895, p 145

2 — Sur la germination des Amandes Rev gén Bot, t IX, 1897, p 1

3 — Sur les réserves oléagineuses de la Noix Rev gen Bot, t IX, 1897, p 313

4 — Recherches sur les réserves hydrocarbonées des bulbes et des tubercules Rev gen Bot, 1898, t X

5 — Recherches physiologiques sur les matières de réserve des arbres Rev gen Bot, t XVI, 1904 et t XVIII, 1906

6 — *Traité de Physiologie végétale et agricole* Paris, 1911

LIEBERMANN (L) Beitraege zur Kentniss der Fermentwirkungen *Pflugers Archiv*, 1904, t CIV

LINDET (L) 1 — Recherches sur le développement et la maturation de la pomme à cidre *Ann Agronom*, 1894, t XX, p 9

2 — Sur le pouvoir électif des cellules végétales vis-à-vis du dextrose et du lévulose *Ann Inst Nat Agron*, 2e Sie, t X, 1911

3 — Sur le pouvoir électif des cellules végétales vis-à-vis du dextrose et du lévulose *C R Ac Sc Paris*, 1911, t CLII, p 775

LOEB (W) Zur chemischen Theorie der alkoholischen Gaerung *Landw Jahrb*, t XXXV, 1906, p 541

MAIGE (A) Recherches sur la respiration de la fleur *Rev gén Bot*, t XVIII, 1906.

MAIGE (Mme G) Recherches sur la respiration de l'étamine et du pistil *Rev gén Bot*, t XXI, 1909

MAIGE (A) et NICOLAS (G) Recherches sur l'influence des variations de la turgescence sur la respiration de la cellule *Rev gén Bot*, t XXII, 1910, p 409

MANGIN (L) Sur le rôle des stomates dans l'entrée et la sortie des gaz *C R Ac Sc Paris*, t CV, 1887, p 879

MANGIN (L.). 1. — Sur les modifications apportées dans les échanges gazeux normaux des plantes par la présence des acides organiques. *C. R. Ac. Sc. Paris*, 1889, t. CIX, p. 716.

2. — Plantations de Paris. *Ann. Sc. Agron.*, 2e Sie, 1896.

MAQUENNE (L.). 1. — Sur la conservation du pouvoir germinatif des graines. *C. R. Ac. Sc. Paris*, t. CXXXX, p. 208.

2. — Sur les changements de composition qu'éprouvent les graines oléagineuses au cours de la germination. *C. R. Ac. Sc. Paris*, t. CXXVII, 1898, p. 625.

MAQUENNE (L.) et DEMOUSSY (E.). 1. — *Nouvelles recherches sur les échanges gazeux des plantes vertes avec l'atmosphère*. Paris, Gauthier-Villars, 1913.

2. — Observations sur la résistance des végétaux à l'asphyxie. *Bull. Soc. Chim. biolog.*, t. III, 1921, p. 273.

MATRUCHOT (L.) et MOLLIARD (M.). Recherches sur la fermentation propre. *Rev. gén. Bot.*, t. XV, 1903, p. 193.

MAZÉ (P.). Sur la transformation des matières grasses en sucre dans les graines oléagineuses en voie de germination. *C. R. Ac. Sc. Paris*, t. CXXXIV, 1902, p. 309.

MAZÉ (P.) et PERRIER (A.). Recherches sur la combustion respiratoire. Production d'acide citrique par les *Citromyces*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1904, t. XVIII, p. 553.

MEISENHEIMER (J.). Ueber das Verhalten der Glukose, Fruktose und Galaktose gegen verdünnte Natronlauge. *Ber.*, t. XLI, 1908, p. 1009.

MILLER (E.-C.). A physiological Study of the germination of *Helianthus annuus*. *Ann. of Bot.*, t. XXIV, 1912, p. 693.

MOLISCH (H.). *Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen*. Iena, Fischer, 1892.

MOLLIARD (M.). 1. — Sur le dégagement d'oxygène provenant de la réduction des nitrates par les plantes vertes. *C. R. Ac. Sc. Paris*, t. CLXIII, 1916, p. 371.

2. — Production d'acide citrique par le *Sterigmatocystis nigra*. *C. R. Ac. Sc. Paris*, t. CLXVIII, 1919, p. 360.

3. — Influence de la réaction du milieu sur la respiration du *Sterigmatocystis nigra*. *C. R. Soc. biolog.*, t. LXXXIII, 1920, p. 50.

4 — Influence d'une dose réduite de potassium sur les caracteres physiologiques du *Sterigmatocystis nigra* C R Ac Sc Paris, t CLXX, 1920, p 949

5 — Sur les caractères presentés par le *Sterigmatocystis nigra* en présence d une dose réduite de phosphore C R Soc biolog , t LXXXIII, 1920, p 479

6 — Sur une nouvelle fermentation acide produite par le *Sterigmatocystis nigra* C R Ac Sc Paris, t CLXXIV, 192?, p 881

Morris (G -H) Hydrolyse de la maltose par la Levure Rev Chem Soc , 1895

Muntz (A) Sur la germination des graines oléagineuses *Ann de Chim et de Phys* (4) t XXII, 1871, p 47?

Musculus Sur la transformation de la matiere amylacee en glucose et dextrine Ann Chim et Phys , t LX, 1860, p 203

Nicloux (M) 1 — Sur un procédé d'isolement des substances cytoplasmiques C R Ac Sc Paris, 1904, t CXXXVIII, p 11?

2 — Sur le pouvoir saponifiant de la graine de Ricin C R Ac Sc Paris, 1904, t CXXXVIII, p 1175

3 — Étude de l'action lipolytique du cytoplasma de la graine de Ricin C R Ac Sc Paris 1904, t CXXXVIII, p 1288

4 — La propriété lipolytique du cytoplasma de la graine de Ricin n est pas due à un ferment soluble C R Ac Sc Paris, 1904, t CXXXVIII, p 135?

5 — Mécanisme d'action du cytoplasma (lipaséidine) dans la graine en voie de germination Réalisation synthétique *in vitro* de ce mécanisme C R Ac Sc Paris, 1904, t CXXXIX, p 143

6, — *Contribution à l'étude de la saponification des corps gras* Paris, 1906

Palladine (W) 1 — Recherches sur la respiration des feuilles vertes et des feuilles étiolées Rev gén Bot , 1893, t V , 1896, t VIII, 1899, t XI

2 — Influence des changements de température sur la respiration des plantes Rev gén Bot , 1899, t XI

3 — Zur Physiologie der Lipoide Ber d d bot Ges , t XXVIII, 1900, p 120

4 — *Physiologie des plantes* Trad Karsakoff, Paris, 1902

5 — Ueber die Bildung der Atmungschromogene in den Pflanzen *Ber d d bot Ges*, t XXVI, 1908, p 389

6 — Ueber das Wesen der Pflanzenatmung *Biochem Zeitschr*, t XVIII, 1909, p 151

PALLADINE (W) u KOSTYTSCHEW (S) Methoden zur Bestimmung der Atmung der Pflanzen *Abderhaldens Bioch Arbeitsmethoden*, t III, p 485

PANTANELLI (E) e FAURE (G) Esperienze sulla condensazione enzimatica degli zuccheri *Atti R Acc Lincei*, 1910, t VIII, Sect V, p 885

PASSERINI (N) Sulla presenza di fermenti zimici ossidanti nelle piante fanerogame *Boll dell'Ist Agr Scandicci*, 1898-1900, t VI-VIII

PASTEUR (L) 1 — Mémoire sur la fermentation appelée lactique, *C R Ac Sc*, 1857, t XLV, 913

2 — Mémoires sur la fermentation alcoolique *C R Ac Sc Paris*, t XIV, 1859, p 1149, *Bull Soc Chim Paris*, 1861

3 — Mémoire sur la fermentation alcoolique *Ann Ch et Phys*, 1860, t LVIII, 323

4 — Mémoire sur la fermentation acétique *Ann Sc de l'Ec Norm Sup*, 1864, t I

5 — Nouvelles observations sur la nature de la fermentation alcoolique *C R Ac Sc*, 1875, t LXXX, 452

6 — *Etude sur la bière*, Paris, 1876

PAUCHON (A) Recherches sur le rôle de la lumière dans la germination *Ann Sc Nat Bot*, 6e Sie, t X, p 81

PELOUZE (J) Sur la saponification des huiles sous l'influence des matières qui les accompagnent dans les graines *Ann de Chim et de Phys*, t XLV, 1855, p 319

PETERS (E) Zur Keimungsgeschichte der Kurbissamens *Landw Versuchst* t III, 1861, p 1

PFEFFER (W) *Physiologie végétale*, Trad Friedel, Paris, 1906

POURIEWITSCH Influence de la température sur la respiration des plantes *Ann Sc Nat Bot*, 9e Sie, 1905, t I

RICHARDS The Respiration of wounded Plants, *Ann of Bot*, 1896, t X

ROSE (Edm) Energie respiratoire chez les plantes cultivées à divers éclairements *Rev gén Bot*, t XXII, 1910, p 385

SACHS (J) Ueber das Auftreten der Starke bei der Keimung oelhaltiger Samen *Bot Zeit*, t XVII, 1859, p 177

SAINT-PIERRE (C) et MAGNIEN (L) Recherches sur les gaz contenus dans les fruits du Baguenaudier *C R Ac Sc Paris*, t XXXII, 1876, 21 août

SAUSSURE (Th de) *Recherches chimiques sur la végétation* Paris, 1804

SCHLŒSING (Th) FILS Sur les échanges d'acide carbonique et d'oxygène entre les plantes et l'atmosphère *Ann Inst, Pasteur*, t VII, 1893, p 28

SCHMIDT (R H) Ueber Aufnahme und Verarbeitung von fetten Œlen durch Pflanzen *Flora*, t LXXIV, 1891, p 300

SCURTI (F) e PAROZZANI (A) Sul potere lipolitico dei semi di crotontiglio *Ann d R Staz Chim Agrar Sperim di Roma*, S[ie] II, 1906-07, t II

SOAVE (M) *Chimica vegetale e agraria* Turin, 1916

SŒRENSEN (S-P-L) 1 — Etudes enzymatiques II Sur la mesure et l'importance de la concentration des ions hydrogènes dans les réactions enzymatiques *C R Labor*, Carlsberg t VIII, 1909, p 1

2 — Ueber die Messung und Bedeutung der Wasserstoffionen-konzentration bei biologischen Prozessen *Asher Spiros Ergebn d Physiol*, t XII, 1912

STEBLER Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Keimung Rés *Bot Cbl*, 1881, p 157

STOKLASA (J) Fermentation lactique et alcoolique dans les tissus des plantes Enzymes qui provoquent cette fermentation *Atti del VI Congr Internaz di Chim applic*, Rome, 1906, t VIII, Section X, p 885

TERROINE (Em F) Etat actuel de nos connaissances sur la formation des graisses *Ann Sc Nat Bot*, 10[e] S[ie], t II, 1920, p 1

TIEGHEM (P Van) 1 — Fermentation gallique *Ann Sc de l'Ec Norm Sup*, 1868

2 — Sur la digestion de l'albumen *Ann Sc Nat Bot*, t IV, 1876, p 180

TIEGHEM (P Van) et BONNIER (G) Recherches sur la vie latente et la vie ralentie *Bull Soc bot Fr*, 1882, p 25 et p 148

WEHMER (C.) 1. — Entstehung und physiologische Bedeutung der Oxalsaure im Stoffwechsel einiger Pilze. *Bot. Zeitung*, 1891.

2. — Zwei neue Schimmelpilze als Erreger einer Citronensaeure-Gaerung. *Beitr. z. Kenntn. einheim. Pilze* I. Hannover u. Leipzig, 1893.

3. — Die Bildung freier Oxalsaeure durch *Aspergillus niger*. *Centralbl. f. Bakteriol. II. Abth.*, t. III, 1897.

4. — Die Bildung freier Oxalsaeure durch *Aspergillus niger*. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, 1906, t. XXIV, p. 381.

5. — Ueber Citronensaeuregaerungs-Pilze. *Chemik. Ztg.*, 1909.

6. — Ueber Citronensaeuregaerung. *Chem. Ztg.*, 1912, t. XXXVI, p. 1106.

7. — Der Gang der Aciditaet in Kulturen von *Aspergillus niger* bei wechselnder Stickstoffquelle. *Biochem. Zeitschr.*, 1914, t. LIX, p. 63.

WELTER (A.). Beitrag zur Kenntniss der Reversibilitaet der Enzymwirkung. *Z. f. ang. Chem.*, t. XXIV, 1911, p. 385.

WHELDALE (M.). *Practical Plant Chemistry*. Cambridge, Univ. Press, 1920.

WINOGRADSKY. 1. — Ueber Schwefelbacterien. *Bot. Zeit.*, 1887.

2. — Ueber Eisenbacterien. *Bot. Zeit.*, 1888.

WOHLGEMUTH (J.). 1. — Ueber eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des diastatischen Ferments. *Biochem. Ztschr.*, 1908, t. IX.

2. — *Grundriss der Fermentmethoden*. Berlin, 1913.

WOLFF (J.). Sur quelques sels minéraux qui jouent le rôle de peroxydases. *C. R. Ac. Sc. Paris*, t. CXLVI, 1908, p. 142, 781 et 1217.

WOLFF (J.) et FERNBACH (A.). Sur la coagulation de l'amidon. *C. R. Ac. Sc. Paris*, t. CXXXVII, 1903, p. 718.

WUSTENFELD. *Bildung von Citronensaeure durch* Citromyces. Dissert., Berlin, 1908.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

Gaston DOIN, Éditeur, 8, place de l'Odeon, PARIS-6e

Y L I I TI I

Publiée sous la direction du Dr TOULOUSE

Nous avons entrepris la publication, sous la direction générale de son fondateur, le Dr Toulouse, Directeur à l'École des Hautes-Etudes, d'une ENCYCLOPÉDIE SCIENTIFIQUE de langue française dont on mesurera l'importance à ce fait qu'elle est divisée en 40 sections ou Bibliothèques et qu'elle comprendra environ 1 000 volumes Elle se propose de rivaliser avec les plus grandes encyclopédies étrangères et même de les dépasser, tout à la fois par le caractère nettement scientifique et la clarté de ses exposés, par l'ordre logique de ses divisions et par son unité, enfin par ses vastes dimensions et sa forme pratique

I

PLAN GÉNÉRAL DE L'ENCYCLOPÉDIE

Mode de publication. — L'*Encyclopédie* se composera de monographies scientifiques, classées méthodiquement et formant dans leur enchaînement un exposé de toute la science Organisée sur un plan systematique, cette Encyclopédie, tout en evitant les inconvenients des Traites — massifs, d'un prix global elevé, difficiles à consulter — et les inconvenients des Dictionnaires — où les articles scindés irrationnellement, simples chapitres alphabetiques, sont toujours necessairement incomplets — reunira les avantages des uns et des autres

Du Traité, l'*Encyclopédie* gardera la supériorite que possède un

ensemble complet, bien divisé et fournissant sur chaque science tous les enseignements et tous les renseignements qu'on en reclame Du Dictionnaire, l'*Encyclopédie* gardera les facilités de recherches par le moyen d'une table generale, l'*Index de l'Encyclopédie*, qui paraîtra dès la publication d'un certain nombre de volumes et sera réimprimé périodiquement L'*Index* renverra le lecteur aux différents volumes et aux pages où se trouvent traités les divers points d'une question

Les éditions successives de chaque volume permettront de suivre toujours de près les progrès de la science Et c'est par là que s'affirme la supériorité de ce mode de publication sur tout autre. Alors que, sous sa masse compacte, un traité, un dictionnaire ne peut être réédité et renouvelé que dans sa totalité et qu'à d'assez longs intervalles, inconvénients graves qu'atténuent mal des supplements et des appendices, l'*Encyclopédie scientifique*, au contraire, pourra toujours rajeunir les parties qui ne seraient plus au courant des derniers travaux importants Il est évident, par exemple, que si des livres d'algèbre ou d'acoustique physique peuvent garder leur valeur pendant de nombreuses annees, les ouvrages exposant les sciences en formation, comme la chimie physique, la psychologie ou les technologies industrielles, doivent nécessairement être remaniés à des intervalles plus courts

Le lecteur appreciera la souplesse de publication de cette *Encyclopedie*, toujours vivante, qui s'elargira au fur et à mesure des besoins dans le large cadre tracé dès le début, mais qui constituera toujours, dans son ensemble, un traité complet de la Science, dans chacune de ses sections un traité complet d'une science, et dans chacun de ses livres une monographie complete Il pourra ainsi n'acheter que telle ou telle section de l'*Encyclopedie*, sûr de n'avoir pas des parties depareillees d'un tout

L'*Encyclopedie* demandera plusieurs annees pour être achevée, car pour avoir des expositions bien faites, elle a pris ses collaborateurs plutot parmi les savants que parmi les professionnels de la redaction scientifique que l'on retrouve généralement dans les œuvres similaires Or les savants écrivent peu et lentement, et il est preferable de laisser temporairement sans attribution certains ouvrages plutot que de les confier à des auteurs insuffisants Mais cette lenteur et ces vides ne présenteront pas d'inconvenients, puisque chaque livre est une œuvre independante et que tous les

volumes publiés sont à tous moments réunis par l'*Index de l'Encyclopédie* On peut donc considérer l'Encyclopédie comme une librairie, où les livres soigneusement choisis, au lieu de représenter le hasard d'une production individuelle, obéiraient à un plan arrêté d'avance, de manière qu'il n'y ait ni lacune dans les parties ingrates, ni double emploi dans les parties très cultivées

Caractère scientifique des ouvrages. — Actuellement, les livres de science se divisent en deux classes bien distinctes les livres destinés aux savants spécialisés, le plus souvent incompréhensibles pour tous les autres, faute de rappeler au début des chapitres les connaissances nécessaires, et surtout faute de définir les nombreux termes techniques incessamment forgés, ces derniers rendant un mémoire d'une science particulière inintelligible à un savant qui en a abandonné l'étude durant quelques années, et ensuite les livres écrits pour le grand public, qui sont sans profit pour des savants et même pour des personnes d'une certaine culture intellectuelle

L'*Encyclopédie scientifique* a l'ambition de s'adresser au public le plus large Le savant spécialisé est assuré de rencontrer dans les volumes de sa partie une mise au point très exacte de l'état actuel des questions, car chaque Bibliothèque par ses techniques et ses monographies, est d'abord faite avec le plus grand soin pour servir d'instruments d'études et de recherches à ceux qui cultivent la science particulière qu'elle représente, et sa devise pourrait être *Par les savants, pour les savants* Quelques-uns de ces livres seront même, par leur caractère didactique, destinés à devenir des ouvrages classiques et à servir aux études de l'enseignement secondaire ou supérieur Mais, d'autre part, le lecteur non spécialisé est certain de trouver, toutes les fois que cela sera nécessaire, au seuil de la section — dans un ou plusieurs volumes de généralités — et au seuil du volume — dans un chapitre particulier — des données qui formeront une véritable introduction le mettant à même de poursuivre avec profit sa lecture Un vocabulaire technique, placé, quand il y aura lieu, à la fin du volume, lui permettra de connaître toujours le sens des mots spéciaux

II

ORGANISATION SCIENTIFIQUE

Par son organisation scientifique, l'*Encyclopédie* paraît devoir offrir aux lecteurs les meilleures garanties de compétence. Elle est divisée en sections ou Bibliothèques, à la tête desquelles sont placés des savants professionnels spécialisés dans chaque ordre de sciences et en pleine force de production, qui, d'accord avec le Directeur général, établissent les divisions des matières, choisissent les collaborateurs et acceptent les manuscrits. Le même esprit se manifestera partout : éclectisme et respect de toutes les opinions logiques, subordination des théories aux données de l'expérience, soumission à une discipline rationnelle stricte ainsi qu'aux règles d'une exposition méthodique et claire. De la sorte, le lecteur, qui aura été intéressé par les ouvrages d'une section dont il sera l'abonné régulier, sera amené à consulter avec confiance les livres des autres sections dont il aura besoin, puisqu'il sera assuré de trouver partout la même pensée et les mêmes garanties. Actuellement, en effet, il est, hors de sa spécialité, sans moyen pratique de juger de la compétence réelle des auteurs.

Pour mieux apprécier les tendances variées du travail scientifique adapté à des fins spéciales, l'*Encyclopédie* a sollicité, pour la direction de chaque Bibliothèque, le concours d'un savant placé dans le centre même des études du ressort. Elle a pu ainsi réunir des représentants des principaux corps savants, Établissements d'enseignement et de recherches de langue française :

Institut
Académie de Médecine

Collège de France
Muséum d'Histoire naturelle
École des Hautes-Études
Sorbonne et École normale
Facultés des Sciences
Facultés des Lettres
Facultés de Médecine
Institut Pasteur
École des Ponts et Chaussées
École des Mines

École Polytechnique
Conservatoire des Arts et Métiers
École d'Anthropologie
Institut national agronomique
École vétérinaire d'Alfort
École Supérieure d'Électricité
École de Chimie industrielle de Lyon
École des Beaux-Arts
École des Sciences politiques

Observatoire de Paris
Hôpitaux de Paris

III

BUT DE L'ENCYCLOPEDIE

Au XVIII° siècle « l'Encyclopédie » a marqué un magnifique mouvement de la pensée vers la critique rationnelle A cette époque, une telle manifestation devait avoir un caractère philosophique Aujourd'hui, l'heure est venue de renouveler ce grand effort de critique, mais dans une direction strictement scientifique, c'est là le but de la nouvelle *Encyclopédie*

Ainsi la science pourra lutter avec la littérature pour la direction des esprits cultivés, qui, au sortir des écoles, ne demandent guère de conseils qu'aux œuvres d'imagination et à des encyclopédies où la science a une place restreinte, tout à fait hors de proportion avec son importance Le moment est favorable à cette tentative, car les nouvelles générations sont plus instruites dans l'ordre scientifique que les précédentes D'autre part, la science est devenue, par sa complexité et par les corrélations de ses parties, une matière qu'il n'est plus possible d'exposer sans la collaboration de tous les spécialistes, unis là comme le sont les producteurs dans tous les départements de l'activité économique contemporaine

A un autre point de vue, l'*Encyclopédie*, embrassant toutes les manifestations scientifiques, servira comme tout inventaire à mettre au jour les lacunes, les champs encore en friche ou abandonnés — ce qui expliquera la lenteur avec laquelle certaines sections se développeront — et suscitera peut-être les travaux nécessaires Si ce résultat est atteint, elle sera fière d'y avoir contribué

Elle apporte en outre une classification des sciences et, par ses divisions, une tentative de mesure, une limitation de chaque domaine Dans son ensemble, elle cherchera à refléter exactement le prodigieux effort scientifique du commencement de ce siècle et un moment de sa pensée, en sorte que dans l'avenir elle reste le document principal où l'on puisse retrouver et consulter le témoignage de cette époque intellectuelle

On peut voir aisément que l'*Encyclopédie* ainsi conçue, ainsi réalisée, aura sa place dans toutes les bibliothèques publiques, universitaires et scolaires, dans les laboratoires, entre les mains des savants, des industriels et de tous les hommes instruits qui veulent

tenir au courant des progres, dans la partie qu'ils cultivent eux-mes ou dans tout le domaine scientifique Elle fera jurisprudence, ce qui lui dicte le devoir d'impartialite qu'elle aura à rem-

l n'est plus possible de vivre dans la societe moderne en ignorant diverses formes de cette activité intellectuelle qui révolutionne conditions de la vie, et l interdependance de la science ne permet s aux savants de rester cantonnes, specialises dans un etroit naine Il leur faut — et cela leur est souvent difficile — se mettre courant des recherches voisines A tous l'*Encyclopédie* offre un rument unique dont la portee scientifique et sociale ne peut apper a personne

IV

ASSIFICATION DES ATIÈRES SCIENTIFIQUES

a division de l *Encyclopedie* en Bibliotheques a rendu necessaire option d'une classification des sciences, où se manifeste necessai ent un certain arbitraire, etant donne que les sciences se dis-uent beaucoup moins par les differences de leurs objets que par divergences des apercus et des habitudes de notre esprit Il se luit en pratique des interpenetrations reciproques entre leurs naines, en sorte que, si l'on donnait a chacun l'etendue a uelle il peut se croire en droit de pretendre, il envahirait tous les itoires voisins, une limitation assez stricte est necessitee par le meme de la juxtaposition de plusieurs sciences

plan choisi, sans viser a constituer une synthèse philosophique sciences, qui ne pourrait etre que subjective, a tendu pourtant a ipper dans la mesure du possible aux habitudes traditionnelles prit, particulièrement a la routine didactique, et à s'inspirer de cipes rationnels

y a deux grandes divisions dans le plan general de l'*Encyclo-* d un côte les sciences pures, et, de l autre, toutes les techno es qui correspondent a ces sciences dans la sphere des applica- A part et au debut, une Bibliothèque d'introduction generale onsacree a la philosophie des sciences (histoire des idees direc s, logique et methodologie)

Les sc
generale
giques
cularite
sante I
sciences
de dega
graphies
logie et
Etant
cation, i
ments ie
logie et
que de l
En re
que leu
quelles
a la ge
anthrope
la zoolog
Les sc
diverses,
sciences
se distin
les appl
pures, et
Enfin,
geait ur
embryolo
integre
son orga
toute l'e
complexe
des socie
On pe
pratique
scientifiqu
rapports
d'ajouter

Les sciences pures et appliquées présentent en outre une division générale en sciences du monde inorganique et en sciences biologiques. Dans ces deux grandes catégories, l'ordre est celui de particularité croissante, qui marche parallèlement à une rigueur décroissante. Dans les sciences biologiques pures enfin, un groupe de sciences s'est trouvé mis à part, en tant qu'elles s'occupent moins de dégager des lois générales et abstraites que de fournir des monographies d'êtres concrets, depuis la paléontologie jusqu'à l'anthropologie et l'ethnographie.

Étant donnés les principes rationnels qui ont dirigé cette classification, il n'y a pas lieu de s'étonner de voir apparaître des groupements relativement nouveaux, une biologie générale — une physiologie et une pathologie végétales, distinctes aussi bien de la botanique que de l'agriculture — une chimie physique, etc.

En revanche, des groupements hétérogènes se disloquent pour que leurs parties puissent prendre place dans les disciplines auxquelles elles doivent revenir. La géographie, par exemple, retourne à la géologie, et il y a des géographies botanique, zoologique, anthropologique, économique, qui sont étudiées dans la botanique, la zoologie, l'anthropologie, les sciences économiques.

Les sciences médicales, immense juxtaposition de tendances très diverses, unies par une tradition utilitaire, se désagrègent en des sciences ou des techniques précises ; la pathologie, science des lois, se distingue de la thérapeutique ou de l'hygiène, qui ne sont que les applications des données générales fournies par les sciences pures, et à ce titre mises à leur place rationnelle.

Enfin, il a paru bon de renoncer à l'anthropocentrisme qui exigeait une physiologie humaine, une anatomie humaine, une embryologie humaine, une psychologie humaine. L'homme est intégré dans la série animale dont il est un aboutissant. Et ainsi, son organisation, ses fonctions, son développement s'éclairent de toute l'évolution antérieure et préparent l'étude des formes plus complexes des groupements organiques qui sont offerts par l'étude des sociétés.

On peut voir que, malgré la prédominance de la préoccupation pratique dans ce classement des Bibliothèques de l'*Encyclopédie scientifique*, le souci de situer rationnellement les sciences dans leurs rapports réciproques n'a pas été négligé. Enfin il est à peine besoin d'ajouter que cet ordre n'implique nullement une hiérarchie, ni

dans l'importance ni dans les difficultes des diverses sciences Certaines, qui sont placées dans la technologie, sont d'une complexité extrême, et leurs recherches peuvent figurer parmi les plus ardues

Mode de publication — Les volumes, illustrés pour la plupart, seront publiés dans le format in-16 et cartonnes De dimensions commodes, ils auront 350 pages environ, ce qui représente une matière suffisante pour une monographie ayant un objet défini et important, établie du reste selon l'economie du projet qui saura eviter l'emiettement des sujets d'exposition

TABLE DES BIBLIOTHÈQUES

C. **Sciences biologiques normatives :**

12 *Biologie générale* . M. CAULLERY, professeur de zoologie à la Sorbonne.

13 *Physique biologique* A. IMBERT, professeur honoraire à la Faculté de Médecine de l'Université de Montpellier, professeur à l'École de Médecine de Marseille.

14 *Chimie biologique* G. BERTRAND, professeur de chimie biologique à la Sorbonne, professeur à l'Institut Pasteur.

15 *Physiologie et Pathologie végétales* . L. MANGIN, de l'Institut, directeur du Muséum d'Histoire Naturelle.

16 *Physiologie* J.-P. LANGLOIS, professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris, professeur au Conservatoire des Arts et Métiers, directeur de la *Revue générale des Sciences*.

17 *Psychologie* E. TOULOUSE, directeur de Laboratoire à l'École des Hautes-Études, médecin en chef de l'asile Sainte-Anne.

18 *Sociologie* . G. RICHARD, professeur à la Faculté des Lettres de l'Université de Bordeaux.

19 *Microbiologie et Parasitologie*. . A. CALMETTE, membre de l'Académie de Médecine, sous-directeur de l'Institut Pasteur et F. BESANÇON, professeur à la Faculté de Médecine de l'Université de Paris, médecin des Hôpitaux.

20 *Pathologie*

- A. *Pathologie médicale* M. KLIPPEL, médecin des Hôpitaux de Paris.
- B. *Neurologie* E. TOULOUSE, directeur de Laboratoire à l'École des Hautes-Études, médecin en chef de l'asile Sainte-Anne.
- C. *Path. chirurgicale* R. PROUST, professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris, chirurgien des Hôpitaux.

D. **Sciences biologiques descriptives :**

21 *Paléontologie* M. BOULE, professeur au Muséum d'Histoire naturelle, directeur de l'Institut de Paléontologie humaine.

22	*Botanique* A *Généralités et phanérogames*	H. Lecomte, de l'Institut, professeur au Muséum d'Histoire naturelle
	Botanique B *Cryptogames*	L. Mangin, de l'Institut, directeur du Muséum d'Histoire naturelle
23	*Zoologie* . .	C. Houlbert, professeur à l'Université de Rennes, lauréat de l'Institut
24	*Anatomie et Embryologie*	C. Houlbert, professeur à l'Université de Rennes, lauréat de l'Institut
25	*Anthropologie et Ethnographie* .	G. Papillault, directeur-adjoint du Laboratoire d'Anthropologie à l'École des Hautes-Études, professeur à l'École d'Anthropologie
26	*Économie politique*	G. Renard, Professeur d'Histoire du Travail au Collège de France

II. Sciences appliquées

A. Sciences mathématiques.

27	*Mathématiques appliquées* . .	M. d'Ocagne, de l'Institut, professeur à l'École Polytechnique et à l'École des Ponts et Chaussées
28	*Mécanique appliquée et génie* . .	M. d'Ocagne, de l'Institut, professeur à l'École Polytechnique et à l'École des Ponts et Chaussées

B. Sciences inorganiques.

29	*Industries physiques*	H. Chaumat, professeur au Conservatoire des Arts et Métiers, sous-directeur de l'École supérieure d'Électricité de Paris
30	*Photographie*	A. Seyewetz, sous-directeur de l'École de Chimie industrielle de Lyon
31	*Industries chimiques*	J. Derôme, inspecteur général de l'Instruction publique, inspecteur des Établissements classés
32	*Géologie et minéralogie appliquées*	L. Cayeux, professeur au Collège de France et à l'Institut national agronomique
33	*Construction*	A. Mesnager, professeur au Conservatoire des Arts et Métiers et à l'École des Ponts et Chaussées

C. Sciences biologiques :

34. *Industries biologiques* G. Bertrand, professeur de chimie biologique à la Sorbonne, professeur à l'Institut Pasteur.

35. *Botanique appliquée et agriculture*
- A. *Phanérogames* H. Lecomte, de l'Institut, professeur au Muséum d'Histoire naturelle.
- B. *Cryptogames* L. Mangin, de l'Institut, directeur du Muséum d'Histoire naturelle.

36. *Zoologie appliquée* J. Pellegrand, assistant au Muséum d'Histoire naturelle.

37. *Thérapeutique générale et pharmacologie* G. Pouchet, membre de l'Académie de Médecine, professeur à la Faculté de Médecine de l'Université de Paris.

38. *Hygiène et médecine publiques* A. Calmette, membre de l'Académie de Médecine, sous-directeur de l'Institut Pasteur.

39. *Psychologie appliquée* E. Toulouse, directeur de Laboratoire à l'École des Hautes-Études, médecin en chef de l'asile Sainte-Anne.

40. *Sociologie appliquée* Th. Ruyssen, professeur à la Faculté des Lettres de l'Université de Bordeaux.

M. Albert Maire, bibliothécaire à la Sorbonne, est chargé de l'Encyclopédie scientifique.

ÉVREUX — IMPRIMERIE HENRI DÉVÉ